



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

Comparación y validación de métodos analíticos de rutina para la determinación de aluminio en coagulantes empleados en la potabilización de aguas.

Autor: Virginia Otero Yuste

Tutor/es: Dra. Marisol Vega Alegre, Alba Acebes Álvarez

Septiembre 2019

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todo el equipo de la empresa ÚNICO COAGULANTES S.L., ubicada en la localidad de Navalmanzano (Segovia), por haberme permitido realizar parte de la experimentación de este trabajo en sus instalaciones, ofreciéndome su ayuda y asesoramiento en todo momento. En especial quiero mencionar al director de esta empresa, José María Gómez de Pablos, mi tutora empresarial, Alba Acebes Álvarez y a mi compañero de laboratorio, Ignacio Macicior Borregón.

También quiero agradecer al Departamento de Química Analítica de la Universidad de Valladolid por haberme prestado la ayuda necesaria para completar los experimentos de este estudio, a mi tutora Marisol Vega Alegre por toda la ayuda brindada para que este trabajo fuera posible, y a los técnicos del servicio de espectroscopía del Laboratorio de Técnicas Instrumentales (LTI), Begoña Ribón Lozano y Rosalía Mostaza Mangas, por la ayuda prestada en el manejo del equipo ICP-OES .

RESUMEN

La potabilización del agua es un proceso cada vez más demandado en todo el mundo. El empleo de coagulantes hace posible la eliminación de algunos parámetros como color y turbidez dando calidad al agua de consumo. Uno de los parámetros a controlar en la fabricación de coagulantes en base aluminio, como el cloruro de polialuminio, es la concentración de aluminio, expresada como porcentaje de óxido de aluminio. Este parámetro se puede analizar por diferentes métodos, y existe una norma basada en volumetría complexométrica cuyo procedimiento es lento y laborioso. La norma UNE-EN ISO 17025:2017, que establece los requisitos técnicos de los laboratorios de ensayo, exige que toda modificación de un método normalizado debe someterse a un proceso de validación del método.

En este trabajo se propone una simplificación del método normalizado UNE-EN-1302:1999, para la determinación de aluminio en coagulantes a base de aluminio utilizados en el tratamiento de agua destinada al consumo humano. El método modificado ha sido validado y se ha verificado que cumple los objetivos de validación propuestos para veracidad, precisión e incertidumbre de medida.

También se ha propuesto y validado un método alternativo espectroscópico (ICP-OES) que pudiese ser implementado en empresas fabricantes de coagulantes para mejorar la capacidad de análisis. Este método ha satisfecho los objetivos de validación en cuanto a los parámetros precisión e incertidumbre, pero el sesgo ha sido excesivamente elevado. Se ha comprobado que la calibración mediante el método de adiciones patrón del método ICP-OES para la determinación de aluminio reduce dicho sesgo a niveles aceptables.

ABSTRACT

Water purification is an increasingly demanded process worldwide. The use of coagulants makes possible to eliminate some parameters such as color and turbidity giving quality to drinking water. One of the parameters to control in the manufacture of coagulants based on aluminum, such as polyaluminium chloride, is the concentration of aluminum, expressed as percentage of aluminum oxide. This parameter can be analyzed by different methods, and there is a standard procedure, based on complexometric titrimetry, that is time consuming and laborious. The UNE-EN ISO 17025: 2017 standard, which establishes the technical requirements of the analytical laboratories, requires that any modification of a standardized method must undergo a method validation process.

This paper proposes a simplification of the standardized method UNE-EN-1302: 1999, for the determination of aluminum in aluminum-based coagulants used in the treatment of water intended for human consumption. The modified method has been validated and it has been verified that it meets the proposed validation objectives for veracity, accuracy and uncertainty of measurement.

An alternative spectroscopic method (ICP-OES) that could be implemented in coagulant manufacturers to improve the analysis capacity has also been proposed and validated. This method has met the validation objectives regarding the precision and uncertainty parameters, but the bias has been excessively high. It has been found that calibration of ICP-OES for aluminum determination by the standard addition method reduces such bias to acceptable levels.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 La importancia de la potabilización	1
1.2 Métodos de tratamiento.....	2
1.3 Uso de coagulantes	3
1.4 Coagulantes con base de aluminio	4
1.5 Métodos de determinación de aluminio en coagulantes	6
1.6 Métodos oficiales de análisis de aluminio en coagulantes.....	9
2. OBJETIVOS.....	11
3. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1 Determinación de aluminio por complexometría	13
3.2 Determinación de aluminio por ICP-OES	15
3.3 Parámetros de validación e incertidumbre de medida	17
3.4 Calibración de balanzas y material volumétrico	22
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
4.1 Procedencia de las muestras.....	25
4.2 Estudios previos	25
4.3 Incertidumbre de la masa y del material volumétrico.....	26
4.4 Validación y estimación de la incertidumbre de medida del método complexométrico.....	30
4.5 Validación y estimación de la incertidumbre de medida del método ICP-OES.....	37
4.6 Comparación de métodos.....	44
5. CONCLUSIONES	47
6. REFERENCIAS	49
7. MATERIAL COMPLEMENTARIO.....	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución de la población de España, 1998-2018.....	1
Figura 2. Clasificación de coagulantes.....	5
Figura 3. Esquema de puntos del plato de la balanza donde realizar la pesada.....	22
Figura 4. Curvas de calibrado para la determinación espectrofotométrica de aluminio....	26
Figura 5. Representación de la incertidumbre combinada frente a la masa nominal de las pesas.	27
Figura 6. Contribuciones de incertidumbre individuales en función de la masa	27
Figura 7. Porcentaje de contribución a la incertidumbre en función de la masa.....	28
Figura 8. Contribuciones individuales a la incertidumbre total	29
Figura 9. Porcentaje de contribución a la incertidumbre en función del material volumétrico	29
Figura 10. Cálculo experimental de LOQ para la valoración complexométrica del aluminio	31
Figura 11. Gráfico boxplot para los resultados obtenidos mediante el método complexométrico.....	33
Figura 12. Porcentaje de contribución de incertidumbres típicas en la determinación de aluminio por método volumétrico.	36
Figura 13. Línea de calibrado y gráfico de residuales para la curva de calibrado 1	37
Figura 14. Comparación de la curva de calibración con adición estándar y la curva de calibrado externo	38
Figura 15. Gráfico box-plot para los resultados obtenidos mediante el método ICP-OES	40
Figura 16. Diagrama causa-efecto o fish-bone para el método ICP-OES.....	42
Figura 17. Porcentaje de contribución de incertidumbres típicas en la determinación de aluminio por ICP-OES	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características y objetivos de calidad perseguidos.	12
Tabla 2. Condiciones de trabajo del equipo ICP-OES para análisis de aluminio	16
Tabla 3. Intervalo de trabajo para la determinación de aluminio por método complexométrico para el cloruro de polialuminio	30
Tabla 4. Resultados obtenidos en el análisis del material de control externo mediante complexometría.....	32
Tabla 5. Porcentaje de Al_2O_3 obtenido mediante el método complexométrico	32
Tabla 6. Tabla de ANOVA para % Al_2O_3 para el factor tiempo (día)	33
Tabla 7. Resultados de incertidumbre combinada y expandida estimada por el método GUM	35
Tabla 8. Cálculo de la incertidumbre del método complexométrico mediante el modelo basado en los resultados de la validación.....	36
Tabla 9. Límites de detección y cuantificación para el ICP-OES para el cloruro de polialuminio.	39
Tabla 10. Valores obtenidos en el análisis del material de control externo mediante ICP-OES	39
Tabla 11. % de Al_2O_3 obtenidos por ICP-OES.	40
Tabla 12. Tabla de ANOVA para % Al_2O_3 por día, determinado por ICP-OES	41
Tabla 13. Incertidumbre del método ICP-OES mediante el modelo basado en los resultados de la validación.....	44
Tabla 14. Tabla comparativa de parámetros técnicos obtenidos por los métodos validados	45
Tabla 15. Comparación de resultados obtenidos por los diferentes métodos	46

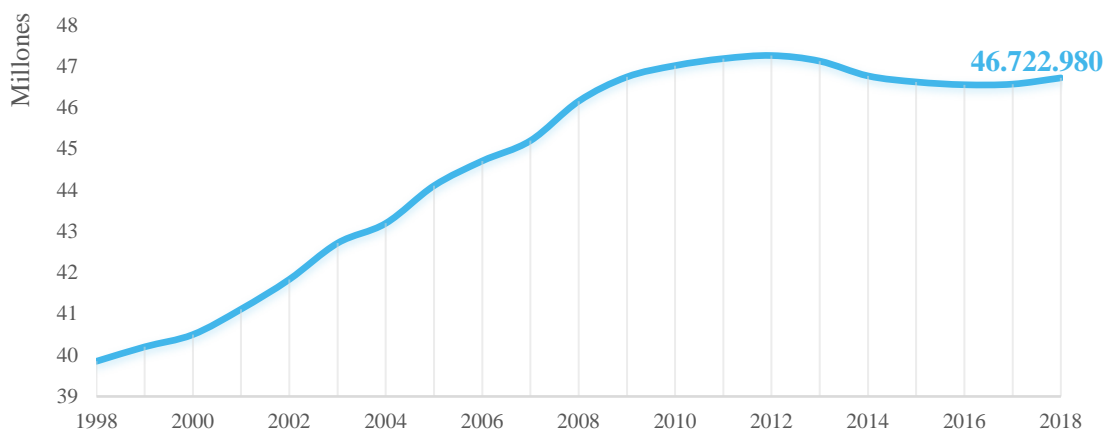
1. INTRODUCCIÓN

1.1 La importancia de la potabilización

A principios del siglo XXI la población española se incrementó de manera muy sustancial en más de seis millones de habitantes, +17,2% entre 1998 y 2018 (Instituto Nacional de Estadística, 2018). El crecimiento demográfico conllevó un aumento en la densidad de población y una mayor urbanización, afectando a la distribución de agua y generando con ello una mayor necesidad de infraestructuras hidráulicas que deben adaptarse para dar servicio a los nuevos habitantes. Estos procesos comprometen un crecimiento de la demanda de agua para los diferentes usos humanos como el doméstico, industrial o agrícola, todos ellos vinculados a la implantación de asentamientos humanos.

Los recursos hídricos son vulnerables a estos procesos y las propiedades químicas del agua pueden ser fácilmente alteradas. Nutrientes orgánicos, metales pesados, residuos industriales, usos agrarios del suelo, almacenamiento de los desechos sólidos urbanos, o las propias aguas residuales de los hogares, afectan, degradan los ecosistemas y se integran en el ciclo del agua. Estos fenómenos hacen que se requieran unos controles más estrictos y procesos cada vez más complejos para garantizar el abastecimiento humano mediante el tratamiento del agua potable (Bratby, 2016).

Figura 1. Evolución de la población de España, 1998-2018



Fuente: Elaboración propia a partir de Cifras oficiales de población, INE

La potabilización se integra dentro del ciclo hidrológico como el proceso conveniente para garantizar las condiciones sanitarias adecuadas para el consumo humano del agua bruta. Para ello, en España y en toda la Unión Europea (Directiva (UE) 2015/1787 de la Comisión, de 6 de octubre de 2015) se adoptan un conjunto de procesos físico-químicos y técnicas de control, seguimiento y tratamiento, que garantizan el correcto suministro de agua para los asentamientos humanos.

Forman dicho sistema integral de gestión del agua las instalaciones de captación, tratamiento, distribución y depuración, jugando un papel fundamental la vigilancia, registro y análisis del agua en todas sus etapas. Pues de este modo se puede estimar la disponibilidad hídrica, evitar contaminaciones insalubres y anticiparse a las necesidades futuras.

1.2 Métodos de tratamiento

Generalmente, la potabilización y la adecuación del agua para el consumo humano se lleva a cabo en las instalaciones adaptadas para la potabilización de aguas conocidas por las siglas E.T.A.P. (Estación de Tratamiento de Agua Potable). Allí, el agua cruda es sometida a una serie de procesos encadenados que, aunque pueden depender del tipo de agua a tratar, lo más habitual es que estén conformadas del siguiente modo:

En primer lugar, tiene lugar una etapa de preoxidación. En ella se agrega sobre el agua bruta una sustancia química con poder oxidante, como por ejemplo el permanganato potásico, siendo capaz de eliminar cualquier materia con capacidad de oxidarse ya sea de naturaleza orgánica o inorgánica. A continuación, tiene lugar la etapa de coagulación y floculación donde la adición de una o varias sustancias químicas van a provocar la agrupación de partículas en suspensión o coloides responsables del color y turbidez del agua, y la sedimentación de las mismas debido a la ganancia de peso-densidad. Manteniendo el agua en reposo, y debido a la acción de la gravedad, es posible separar las partículas del proceso anterior mediante una técnica de decantación. Sigue una etapa de filtración en la que el agua atraviesa un sistema de filtros con el fin de retener aquellas partículas que no se lograron sedimentar en el proceso de coagulación. Una vez que se obtiene el agua libre de partículas en suspensión, se aplica un ajuste de acidez mediante la adición de sustancias químicas, como por ejemplo el hidróxido cálcico, con el fin de evitar la corrosión de las tuberías en una fase de neutralización.

Por último, se lleva a cabo un proceso de desinfección final, añadiendo normalmente cloro y amoniaco, con el objeto de formar cloraminas para conseguir de forma eficaz la eliminación de posibles microorganismos que hayan podido quedar latentes frente a los anteriores procedimientos. De esta manera se logra garantizar la calidad del agua final en toda la red de abastecimiento (Rodríguez, 2008).

1.3 Uso de coagulantes

La coagulación es una etapa de gran importancia integrada en el sistema de tratamiento del agua. En ella, principalmente, se produce la eliminación de partículas suspendidas y coloidales. Estas partículas de origen inorgánico, orgánico o biológico como bacterias, plancton, algas y virus, son las causantes de dar características de turbidez y coloración al agua cruda (Vargas y Romero., 2006).

Las partículas coloidales son sólidos suspendidos de pequeño tamaño (entre 10^{-6} y 10^{-9} m) cuya velocidad de sedimentación es muy lenta. Estos agregados se hallan, generalmente, cargados negativamente debido a la presencia de grupos carboxílicos (RCOO^-) e hidroxilo (OH^-) en su superficie. Esta carga es responsable de generar repulsión entre unas partículas coloidales y otras, impidiendo su aglomeración y, en consecuencia, la formación de agregados de mayor peso que facilitarían su sedimentación. Por ello, las suspensiones coloidales son muy estables y su sedimentación es pausada (Guzmán et al., 2013)

Con el fin de aglomerar y eliminar estas partículas mediante sedimentación y posterior filtración son desestabilizadas mediante la adición de iones metálicos trivalentes como los iones aluminio (Al^{3+}) o férrico (Fe^{3+}). Estos iones se caracterizan por tener una fuerte tendencia a formar, en disolución acuosa, complejos insolubles con un gran número de ligandos, especialmente con moléculas polares portadoras de grupos carboxílicos e hidroxilo (Aguilar et al., 2002). La química acuosa de estos iones compone productos de hidrólisis que logran vencer la repulsión electrostática entre las partículas coloidales produciéndose una aglomeración mediante fuerzas de Van der Waals (Vargas y Romero., 2006).

A este proceso de desestabilización de suspensiones coloidales se le denomina proceso de coagulación, que se produce al adicionar una o varias sustancias químicas denominadas coagulantes.

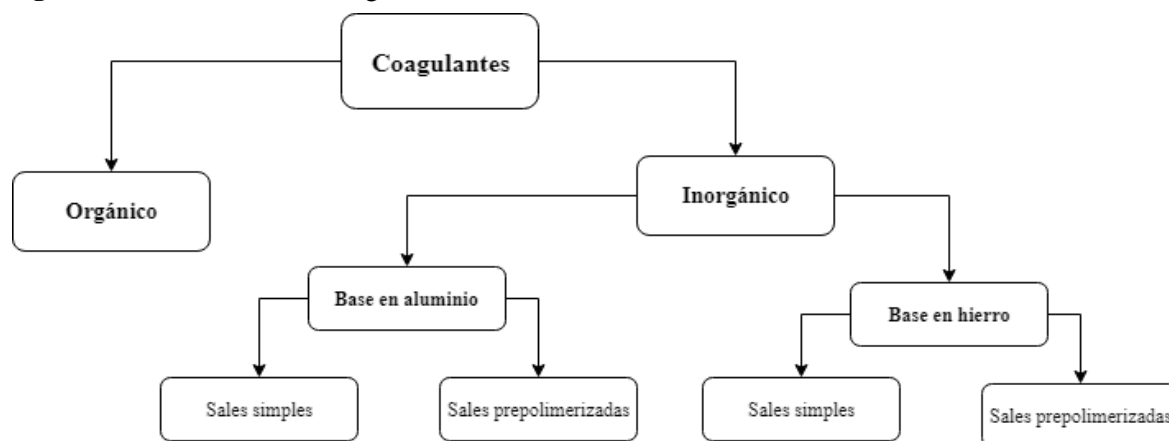
De forma general, los coagulantes, pueden ser clasificados en función de su composición en dos grandes grupos: coagulantes inorgánicos y coagulantes orgánicos (Aguilar et al., 2002). Sin embargo, los más demandados para el tratamiento químico del agua son los coagulantes inorgánicos, y por ello, en el presente trabajo de fin de grado se hablará únicamente de ellos.

1.4 Coagulantes con base de aluminio

Dentro de la clasificación de los coagulantes inorgánicos se pueden localizar dos categorías atendiendo a la naturaleza de sus sales: coagulantes con base en hierro, procedentes de sales de hierro y coagulantes con base en aluminio, procedentes de sales de aluminio. A su vez, en cada una de estas clasificaciones podemos encontrar productos coagulantes de sales simples o bien de sales prepolimerizadas (Aguilar et al., 2002). La *Figura 2* muestra esquemáticamente dicha clasificación.

En los últimos años, los coagulantes más demandados han sido los coagulantes de sales prepolimerizadas ya que presentan ventajas notorias respecto a los coagulantes de sales simples a lo que se suma su disponibilidad y su costo relativamente bajo (Bratby, 2016). Entre las ventajas destacan su mejor eficacia en el tratamiento, excelente sedimentación de flóculos, amplio rango de pH de trabajo, baja sensibilidad a la temperatura y menor concentración del ion residual (Aguilar et al., 2002).

El cloruro de polialuminio, conocido bajo el acrónimo PAC, es una sal prepolimerizada que hace referencia a la familia de coagulantes inorgánicos definidos por la fórmula molecular: $Al_m(OH)_nCl_{3m-n}$, en la cual se cumple que $0 < n \leq 3m$ y que $m \geq 1$. El PAC se encuentra caracterizado generalmente por dos parámetros: contenido de aluminio expresado como $\%Al_2O_3$ en peso y contenido de hidróxido expresado como basicidad relativa (Pratt et al., 2011).

Figura 2. Clasificación de coagulantes

Fuente: Elaboración propia a partir de (Aguilar et al., 2002)

La basicidad relativa del PAC es una medida que relaciona los moles de hidróxido por cada tres moles de aluminio, y está relacionado con el grado de neutralización del polímero pudiendo variar desde el 0% (solución de cloruro de aluminio) hasta el 83% (solución de hidroxiclورو de aluminio, $\text{Al}_2(\text{OH})_5\text{Cl}$ (Pilca, 2011)). En función de este parámetro, el PAC se encuentra dividido en tres grupos según sus basicidades. Por un lado, tenemos el PAC de baja densidad cuya basicidad relativa se encuentra entre el 1 y 45%, PAC de alta basicidad comprendida entre el 45 y 65% y PAC de ultraalta basicidad comprendida entre el 65 y 83% (Pratt et al., 2011).

Debido a la complejidad de la química acuosa del PAC, en la actualidad, existe un gran debate sobre las reacciones de polimerización del aluminio y la composición del producto resultante. Por lo general, se conoce que estos materiales forman una variedad de oligómeros y polímeros en disolución en donde la basicidad relativa del producto es un factor que juega con la distribución de las especies moleculares en disolución, de manera que, una basicidad relativa baja favorece la formación de especies de bajo peso molecular mientras que una basicidad relativa elevada favorece la formación de especies de alto peso molecular (Pratt et al., 2011). Los iones hidroxilo presente en el polímero son considerados ligandos donadores y cuando se coordinan a un ion metálico, estos adquieren la capacidad de coordinarse a otros iones metálicos actuando como grupos puente dando origen a complejos polinucleares de alto peso molecular (Aguilar et al., 2002).

1.5 Métodos de determinación de aluminio en coagulantes

En el proceso de fabricación de coagulantes PAC uno de los parámetros a controlar es el contenido de aluminio en el producto final, expresado como porcentaje de alúmina, %Al₂O₃. Debido al elevado contenido de aluminio en el producto, no se requiere una elevada sensibilidad analítica, pero sí se recomienda que el método sea robusto, rápido, sencillo y exacto. Los métodos analíticos que se indican a continuación reúnen esas características.

1.5.1 Determinación de aluminio mediante métodos volumétricos.

El AEDT (sal sódica de dihidrato de ácido etilendiaminotetraacético) es un agente quelante ampliamente utilizado en Química Analítica dado que permite determinar prácticamente todos los elementos de la tabla periódica. Los agentes quelantes polidentados, como el AEDT, son denominados complexonas y son capaces de formar complejos con iones metálicos. De esta manera, se pueden llevar a cabo el análisis de estos iones mediante una sencilla valoración complexométrica.

Cuando el analito es el aluminio, la determinación complexométrica directa con AEDT es difícil de conseguir cuantitativamente, debido a que el aluminio reacciona muy lentamente con el AEDT en las condiciones de la valoración. Pese a ello, gracias a la elevada constante de estabilidad que posee el complejo de aluminio con el AEDT y a la dificultad del análisis de este elemento por otras vías de analíticas debido a sus altas interferencias, hacen interesante el método complexométrico para su cuantificación (Harris, 2007). Para poder llevar a cabo la determinación de Al³⁺ mediante este análisis volumétrico se recurre a una valoración por retroceso. Para eso, se añade una cantidad en exceso conocida de AEDT, se calienta durante cierto tiempo para favorecer la formación de la complexona de aluminio, y el exceso de AEDT puede titularse de forma rápida y fácil con una disolución patrón de Zn²⁺.

1.5.2 Determinación de aluminio mediante espectroscopía molecular

El aluminio puede ser determinado colorimétricamente tras formar un complejo coloreado del metal con un ligando adecuado ajustando adecuadamente el pH del medio. Se han descrito numerosos ligandos y procedimientos adecuados para la determinación de aluminio en aguas y otras matrices. Estos métodos se resumen en la *Tabla I* recogida en la sección de Material Complementario.

De los métodos espectrofotométricos disponibles, quizás los de mayor interés debido a la sencillez del procedimiento, robustez y sensibilidad, son los que usan como ligandos Cromoazurol S y Eriocromocianina R. Estos reactivos son capaces de formar complejos estables y coloreados con el aluminio de forma cuantitativa. Ambos procedimientos son muy sensibles y permiten determinar aluminio en aguas, con límites de detección muy por debajo del mg/L.

En ambos procedimientos, las operaciones previas de preparación de muestra y patrones de calibración son análogas. En primer lugar, se debe llevar a cabo la dilución de la muestra para que su concentración quede dentro del intervalo lineal de calibración rango. Después se adicionan reactivos adecuados para eliminar interferencias potenciales de otros iones presentes en el medio como, por ejemplo, ácido ascórbico al 1% para eliminar la interferencia del ion férrico Fe^{3+} reduciéndolo a ion ferroso Fe^{2+} , de manera que la presencia de esta forma reducida imposibilita la formación de complejos hierro-ligando. Análisis previos del producto PAC objeto de estudio demostraron que el único metal detectable presente, además del aluminio, es el hierro, por lo que no es necesario ningún tratamiento adicional de la muestra. Para formar el complejo coloreado de aluminio es necesario fijar el pH del medio a su valor óptimo mediante la adición de la adecuada disolución reguladora de pH. Finalmente, se añade el ligando complejante en concentración adecuada para formar el complejo, se selecciona la longitud de onda de absorción óptima de cada complejo, y se mide la absorbancia de patrones y muestras.

Conocida la absorbancia de la muestra, se realiza una interpolación lineal de la curva de calibrado y se obtiene la cantidad de aluminio presente en la muestra.

1.5.3 Determinación de aluminio mediante espectroscopía atómica

La espectrofotometría atómica permite cuantificar el elemento presente en la muestra en función de la cantidad de radiación visible o ultravioleta que absorban, o emitan, los átomos en estado gaseoso (Harris, 2007).

El análisis de aluminio mediante técnicas de emisión basa su fundamento en la excitación de los átomos de la muestra que sirven como fuente de radiación. La intensidad de emisión es proporcional a la concentración del elemento en la muestra, obteniendo así la cantidad de aluminio presente en ella. Para que el aluminio consiga ser atomizado y esté libre de interferentes, la llama debe de ser suficientemente energética. Esto se consigue mediante el

empleo de plasma como fuente de ionización. La espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) es adecuada para la determinación de aluminio en un amplio rango de concentraciones y cumple los requisitos de rapidez, sencillez y exactitud. Para ello, el analito presente en una muestra líquida es nebulizado en el interior del plasma generado por gas argón a partir de corriente de alta frecuencia. El aluminio es atomizado emitiendo radiación al volver a su estado fundamental, la cual es captada por una red de difracción que forma el detector.

De manera similar, es posible el análisis de este elemento utilizando la técnica de absorción atómica de llama (FAAS). Para atomizar el aluminio es necesaria una llama de elevada energía, empleándose la mezcla $\text{N}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2$. Una lámpara de cátodo hueco de aluminio emite radiación monocromática que atraviesa la llama donde se han formado los átomos de aluminio, que absorben dicha radiación. El detector cuantifica la cantidad de radiación absorbida, que es proporcional a la concentración de aluminio en la muestra.

1.5.4 Determinación de aluminio mediante Gravimetría

El análisis gravimétrico es un método clásico de análisis basado en la formación de un compuesto cuya masa se relaciona estequiométricamente con la masa del analito presente en la muestra. Para ello, el analito es separado de la matriz de la muestra como un precipitado convirtiéndolo en un compuesto de composición conocida, normalmente el óxido del analito, el cual se puede pesar (Harris, 2007).

Mediante esta metodología, el aluminio presente en la muestra es convertido en $\text{Al}(\text{OH})_3$, es decir, una especie insoluble, la cual se puede separar por filtración, se lava con una solución adecuada, y se calcina formándose la especie Al_2O_3 anhidra que se pesa en frío.

Sin embargo, pese a la sencillez del método, la determinación de aluminio mediante la técnica gravimetría lleva consigo una serie de desventajas ya que, además de ser un procedimiento lento y laborioso, presenta muchas interferencias de otros elementos formadores de hidróxidos.

1.6 Métodos oficiales de análisis de aluminio en coagulantes

Según la normativa europea, UNE-EN-1302:1999, se establece como método oficial para la determinación de aluminio en coagulantes a base de aluminio utilizados en el tratamiento de agua destinada al consumo humano, el método complexométrico (AENOR, 1999), cuyo procedimiento se detalla a continuación:

Se pesan con una precisión de 0.001 g, 25 g de muestra en un vaso de precipitados de 400 ml. A continuación, se añaden 150 ml de agua a una temperatura entre 80 y 90 °C, agitando con una varilla de vidrio hasta la completa disolución de la muestra. Acto seguido, se transfiere cuantitativamente la solución a un matraz aforado de 500 ml, enrasando y volteando este hasta una completa homogeneización.

A partir de esta primera solución se recoge una alícuota de 20 ml la cual es transferida a un matraz aforado de 200 ml, enrasando con agua destilada y homogeneizando. Se repite el proceso con una alícuota más. Seguidamente se transfieren tres alícuotas de 100 ml a tres vasos de precipitados de 250 ml. Se ajusta el pH de la muestra entre 5 y 6 con la ayuda de una disolución de hidróxido sódico 2.5 M. Una vez alcanzado el pH, se adicionan 5 ml de solución de ácido clorhídrico 1 M y 50 ml de solución valorada de AEDT.

Se tapa con un vidrio de reloj y se calienta la solución a una temperatura entre 80 y 90 °C durante 20 min. Una vez transcurrido ese intervalo de tiempo, se deja enfriar a temperatura ambiente.

Posteriormente se aclara el vidrio de reloj con agua dejando caer el líquido de lavado sobre el vaso de precipitados. Se neutraliza la muestra de ensayo con una solución de acetato sódico 0.98 M hasta conseguir un pH de muestra entre 5 y 5.5 y se añaden 10 ml de una disolución tampón acético/acetato consiguiendo un pH de 5.5.

Por último, se añaden unas gotas de indicador de anaranjado de xilenol y se valora con una solución valorada de cloruro de cinc, preparada disolviendo cinc metálico tipo primario con ácido clorhídrico, hasta que se produzca el viraje del indicador de amarillo a rojo.

El procedimiento descrito en la norma es farragoso e innecesariamente laborioso al incluir una serie de operaciones en la etapa de preparación de muestra que resultan injustificadas y perfectamente prescindibles en la determinación complexométrica de aluminio (III) en coagulantes de cloruro de polialuminio (PAC):

- Empleo de una disolución patrón de cloruro de cinc originada a partir de cinc metálico y ácido clorhídrico concentrado. La preparación de esta disolución patrón es lenta, engorrosa y peligrosa, ya que se desprende hidrógeno en la reacción de disolución. Se puede sustituir por una disolución valorada de sulfato de cinc, soluble en agua, que además de suponer un ahorro de tiempo y dinero, no modifica el pH del medio durante la valoración.
- Preparación de la muestra: Durante la preparación de la muestra se observaron varios pasos aparentemente prescindibles como:
 - Disolución de la muestra en agua caliente. Esta operación no es necesaria pues el coagulante PAC es soluble en agua a temperatura ambiente.
 - Gran peso de muestra seguido de varias etapas de dilución. El elevado contenido de aluminio en los coagulantes comerciales PAC permite trabajar con menor masa de muestra, reduciendo simultáneamente el volumen de agua destilada necesario para su disolución. Es recomendable simplificar las etapas previas de dilución y reducir los volúmenes de muestra a valorar para trabajar con más comodidad, ahorrar agua destilada y reactivos, y reducir errores experimentales asociados a sucesivas diluciones.
 - Regulación del pH antes y después del calentamiento. Los coagulantes PAC presentan un pH ligeramente ácido pero cercano al pH óptimo para la valoración complexométrica, por lo que las etapas de alcalinización con NaOH y posterior acidificación con HCl pueden ser evitadas. Bastará con tamponar el medio al pH óptimo de valoración, disminuyendo así errores derivados de la adición de reactivos innecesarios.
 - Sustitución de la disolución tampón acético-acetato por acetato sódico 1 M. Debido a que el producto en solución presenta un pH ligeramente inferior al pH óptimo, es más efectivo adicionar acetato sódico que genera la disolución buffer in situ.

2. OBJETIVOS

Este Trabajo Fin de Grado se ha realizado en colaboración con la empresa Único Coagulantes S.L., ubicada en el término municipal de Navalmanzano (Segovia) y dedicada a la fabricación de coagulantes de cloruro de polialuminio destinados a la potabilización de aguas.

La determinación del contenido de aluminio en coagulantes de cloruro de polialuminio, PAC, expresado como porcentaje de óxido de aluminio, es un ensayo rutinario dado que es uno de los parámetros a verificar en el control de calidad del proceso productivo. La norma UNE-EN-1302:1999 establece un método oficial para la determinación de este elemento en productos coagulantes a base de aluminio que es lento, laborioso e ineficaz. Los laboratorios de las empresas requieren con frecuencia adaptar los métodos normalizados a sus productos para aumentar la velocidad de análisis y minimizar los costes analíticos y la incertidumbre de los resultados.

El objetivo principal de este trabajo ha sido simplificar y mejorar el procedimiento descrito en la norma EN-UNE-1302:1999 para adaptarlo al producto PAC-18 fabricado por la compañía Único Coagulantes S.L., con el fin de reducir costos en reactivos, reducir el impacto medioambiental, minimizar el tiempo de tratamiento de muestra, así como reducir el número de etapas empleadas que llevará asociado un menor error en los resultados.

Según la norma ISO 17025, toda modificación del método oficial debe llevar consigo una validación. Por ello, un segundo objetivo del trabajo ha sido validar el método simplificado propuesto.

Además, se propone y se valida un método alternativo instrumental para el análisis de aluminio en el coagulante PAC-18 como un procedimiento más rápido y con una mayor sensibilidad, con el fin de que pueda ser empleado en un futuro en la empresa.

Finalmente, los dos procedimientos analíticos validados se compararán en términos de precisión y veracidad, así como rapidez y coste analítico.

Los valores objetivo perseguidos para los parámetros de validación del método analítico empleado en la determinación de aluminio en PAC-18, *Tabla 1*, se han elegido atendiendo a los contenidos habituales en este tipo de coagulantes y en la precisión exigible para un correcto control de calidad del producto.

Tabla 1. Características y objetivos de calidad perseguidos.

Parámetro		Requisito	Estimación
Límite De Detección (%Al₂O₃)		< 2.5	
Límite De Cuantificación (%Al₂O₃)		< 7.5	
Sesgo (%E_{rel})		< 10	$E_{rel}(\%) = \frac{\delta}{\bar{x}} \cdot 100$
Precisión:	<i>Repetibilidad (%DER_r)</i>	1	$\%DER = \frac{s_r}{\bar{x}} \cdot 100$
	<i>Reproducibilidad (%DER_R)</i>	2	$\%DER = \frac{s_R}{\bar{x}} \cdot 100$
Incertidumbre de medida (%Al₂O₃)		± 2	$U_{rel}(\%) = \frac{U}{\bar{x}} \cdot 100$

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Determinación de aluminio por complexometría

3.1.1 Reactivos y aparatos

Durante la experimentación, se empleó material volumétrico de clase A. Para el procedimiento de análisis se requirieron de matraces de 1 l y 500 ml, pipetas de 25 y 10 ml y una bureta de 50 ml.

Para llevar a cabo la realización de los ensayos fue necesario el empleo de agua destilada de calidad de grado 3 así como la preparación y el uso de los siguientes reactivos:

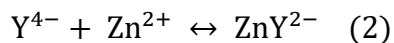
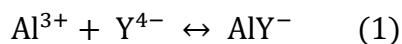
- Solución valorada de AEDT 0.05 M. Se pesan aproximadamente 18.612 g de AEDT, $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$, se disuelven y se transfieren a un matraz aforado de 1 l, homogeneizando y enrasando el matraz. Se toman 10 ml de la solución y se llevan a un Erlenmeyer, por triplicado a los cuales se añade una cantidad de 5 ml de una solución reguladora de amonio cloruro-amoniaco. Se adicionan unas gotas de indicador negro de eriocromo T (NET) y se valora frente a un patrón certificado de sulfato magnésico ($MgSO_4$) 0.05 M. Se anota el volumen consumido y se halla el factor de titulación (k). Posteriormente se procede al etiquetado de la disolución.
- Solución de acetato sódico 1 M. Se pesan aproximadamente 136.1 g de acetato sódico trihidratado, se transfieren y se disuelven en un matraz aforado de 1 l, se enrasa y se homogeniza.
- Indicador de anaranjado de xilenol al 0.1%. Se pesan 0.05 g de anaranjado de xilenol y se disuelven en un matraz de 50 ml con agua destilada.
- Solución valorada de sulfato de cinc 0.05M. Se pesan aproximadamente 14.38 g de sulfato de cinc heptahidratado, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, se disuelven transfiriéndose a un matraz aforado de 1 l, enrasando y homogeneizando la disolución. Posteriormente se toman 10 ml de la disolución y se llevan a un Erlenmeyer, por triplicado, a los cuales se adiciona una cantidad de 5 ml de una solución reguladora de cloruro amónico-amoniaco. Se adicionan unas gotas de indicador negro de eriocromo T y se valora frente a una solución de AEDT 0.05 M cuyo factor de titulación es conocido. Se anota el volumen consumido y se halla el factor de titulación del sulfato de cinc. Para finalizar se procede a su etiquetado.

3.1.2 Procedimiento analítico

Se pesan con precisión de 0.0001 g, 5 g de muestra en un vaso de precipitados de 100ml. Se añade agua destilada a temperatura ambiente hasta la completa disolución de la muestra. Seguidamente, la muestra diluida, es transferida cuantitativamente a un matraz aforado de 500 ml, enrasando y volteando el mismo hasta una completa homogenización. Se transfiere una alícuota de 25 ml a un matraz Erlenmeyer de 250 ml.

Se adicionan 25 ml de una solución valorada de AEDT 0.05 M. Dicha mezcla se tapa con un vidrio de reloj y se calienta en una placa calefactora a una temperatura entre 80 y 90 °C durante 20 min. Transcurrido dicho tiempo, la mezcla se deja enfriar a temperatura ambiente. Se aclara el vidrio de reloj con agua dejando caer el líquido de lavado sobre el matraz y se añaden 10 ml de una solución de acetato sódico 1 M con el fin de alcanzar un pH estable en torno a 5.5. Se añaden unas gotas de indicador de anaranjado de xilenol y se valora con la solución valorada de sulfato de cinc 0.05 M hasta observar el viraje del indicador de amarillo a rojo. Por último, se anota el volumen consumido. La valoración se realiza por triplicado.

Las reacciones químicas que tienen lugar durante la valoración por retroceso son:



Conocida la cantidad total de AEDT añadida y el exceso no consumido por el aluminio, puede obtenerse la masa de aluminio presente en la alícuota y, finalmente, el porcentaje de Al_2O_3 equivalente en la muestra:

$$\text{mmol Y}_{\text{TOTALES}}^{4-} = \text{mmol Al}^{3+} + \text{mmol Zn}^{2+}$$

$$C_{\text{Y}^{4-}} - k_{\text{Y}^{4-}} - V_{\text{Y}^{4-}} = \text{mmol Al}^{3+} + C_{\text{Zn}^{2+}} k_{\text{Zn}^{2+}} V_{\text{Zn}^{2+}}$$

Como $C_{\text{Y}^{4-}}$ y $C_{\text{Zn}^{2+}}$ son 0.05 M:

$$0.05 \times (k_{\text{Y}^{4-}} - V_{\text{Y}^{4-}} - k_{\text{Zn}^{2+}} V_{\text{Zn}^{2+}}) = \text{mmol Al}^{3+}$$

$$\% \text{Al}_2\text{O}_3 = \frac{0.05 \times [(k_{\text{Y}^{4-}} - V_{\text{Y}^{4-}}) - (k_{\text{Zn}^{2+}} V_{\text{Zn}^{2+}})] \times M_{\text{molec Al}_2\text{O}_3} \times 500 \times 100}{1000 \times 2 \times 25 \times m_{\text{muestra}}} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

$k_{Y^{4+}}$ es el factor de titulación de la disolución valorada de AEDT.

V_{AEDT} es el volumen, en ml, de la disolución valorada de AEDT.

$k_{Zn^{2+}}$ es el factor de titulación de la disolución valorada de cloruro de cinc.

$V_{Zn^{2+}}$ es el volumen, en ml, de la disolución valorada de cloruro de cinc.

$M_{molecAl_2O_3}$ es la masa molecular, en g/mol, del óxido de aluminio.

$m_{muestra}$ es la masa, en g, de la muestra.

500 y 25 es el volumen, en ml, que refleja la dilución de la muestra.

3.2 Determinación de aluminio por ICP-OES

3.2.1 Reactivos y aparatos

Para la determinación de aluminio en este tipo de coagulantes se utilizó un espectrómetro de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente VARIAN 725-ES.

En el procedimiento de análisis se empleó matraces de 100 ml de clase A, micropipetas regulables de 1 y 5 ml y tubos estériles.

Para llevar a cabo la realización de los ensayos fue necesario el empleo de agua desionizada de calidad miliQ así como la preparación y el uso de los siguientes reactivos:

- Disolución madre de aluminio 1000 ppm. Disolución comercial con concentración certificada de 1000 ± 2 ppm.
- Disolución de ácido nítrico 4%. Se cogen con una probeta aproximadamente 59 ml de ácido nítrico al 65% de pureza analítica y se llevan a un matraz de 1 l donde se enrasa con agua desionizada y homogeneiza.

3.2.2 Procedimiento analítico

En primer lugar, se procede a la construcción de la línea de calibrado preparando patrones de calibración conteniendo 0, 10, 25, 50, 75, 100, 125 y 150 mg/l de aluminio. Sobre tubos estériles se pesan, con precisión de 0.0001 g, 0, 0.250, 0.625, 1.25, 1.875, 2.5, 3.125, 3.75 ml de la disolución madre de aluminio de 1000 ppm, anotando la masa exacta de la pesada. Se diluyen con la disolución de ácido nítrico 4% hasta 25 g. Se apunta el peso final y se homogeneiza. Finalmente, se calcula la concentración exacta de los patrones.

A continuación, se prepara la muestra. Para ello, se pesa con precisión de 0.0001 g, 0.1 g de muestra. Se transfiere a un matraz de 100 ml, se enrasa con la disolución de ácido nítrico al 4% y se homogeniza. Se transfieren 25 g de la disolución a un tubo estéril y se etiqueta.

Una vez preparados los patrones y las muestras, se enciende el equipo y se seleccionan los parámetros de análisis, esperando aproximadamente diez minutos a que el plasma alcance una temperatura estable. La *Tabla 2* recoge los parámetros instrumentales empleados en la determinación de aluminio por ICP-OES.

Tabla 2. Condiciones de trabajo del equipo ICP-OES para análisis de aluminio

Parámetros de análisis de aluminio en ICP-OES	
Longitud de onda (nm)	396.52
Flujo de plasma (l Ar · min ⁻¹)	15.0
Flujo de gas auxiliar (l Ar · min ⁻¹)	1.0
Presión nebulizador (kPa)	180
Potencia (kW)	1.30
Altura de visión (mm)	10

Para validar las mediciones del instrumento, cada diez muestras, se introduce una disolución de control de concentración conocida y un blanco.

La energía emitida por los átomos de aluminio excitados en el plasma se relaciona linealmente con la concentración, obteniéndose una línea de calibrado lineal en el rango de calibración seleccionado. La concentración de aluminio en la disolución de la muestra se obtiene mediante la interpolación de la señal analítica en la curva de calibración:

$$C_{Al,dil} = \frac{I_m - b_0}{b_1} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde:

I_m es la energía emitida por la muestra, en cuentas/s.

b_0 es la ordenada en el origen de la curva de calibrado, en cuentas/s.

b_1 es la pendiente de la recta de la curva de calibrado, en cuentas-l/(s·mg).

Una vez conocida la concentración de aluminio en la muestra, el resultado es reconvertido en porcentaje de óxido de aluminio, el parámetro de calidad de nuestro producto que aparecerá en el etiquetado:

$$\% \text{Al}_2\text{O}_3 = \frac{C_{\text{Al,dil}} \times V_{\text{matraz}} \times M_{\text{molecAl}_2\text{O}_3} \times 100}{1000\,000 \times 2 \times M_{\text{atomAl}} \times m_{\text{muestra}}} \text{ (Ec. 3)}$$

Donde:

$C_{\text{Al,dil}}$ es la concentración, en mg/l, de aluminio en la muestra dada por la ecuación 2.

V_{matraz} es el volumen del matraz, en ml, donde se ha diluido la muestra.

$M_{\text{molecAl}_2\text{O}_3}$ es la masa molecular, en g/mol, del óxido de aluminio.

M_{atomAl} es la masa atómica, en g/mol, de aluminio.

m_{muestra} es la masa, en g, de la muestra.

3.3 Parámetros de validación e incertidumbre de medida

El apartado 7.2.2 de la norma UNE-EN-ISO 17025:2017, relativo a validación de los métodos de ensayo, establece que los laboratorios que deseen alcanzar la acreditación para su actividad analítica deben validar los métodos no normalizados, los desarrollados por el laboratorio y los métodos normalizados utilizados fuera de su alcance previsto o modificados de otra forma. Esta validación debe verificar que las características del método cumplen con los requisitos particulares de su uso específico (Hernández, 2013; ISO/IEC 17025:2017)

Para llevar a cabo el procedimiento de validación se tienen que estimar ciertos parámetros técnicos. La metodología aplicable para su estimación difiere ligeramente si el método analítico se basa en una reacción química, como volumetrías o gravimetrías, o instrumental, que conlleva un calibrado instrumental. Los parámetros de validación y la metodología seleccionada para su estimación se detallan a continuación (Magnusson y Örnemark.,2014):

- Límite de detección y cuantificación: El límite de cuantificación (LOQ) se define como la concentración mínima de analito presente en una muestra que puede ser determinado con un nivel aceptable de veracidad y precisión mientras que el límite de detección (LOD) se define como el valor medido con una probabilidad β de declarar erróneamente la ausencia de analito en un material, dada una probabilidad α de declarar erróneamente su presencia, empleándose generalmente el valor 0.05 para α y β . A la señal del LOD le corresponde un valor de concentración interpretable como la mínima cantidad de analito que puede ser detectada con fiabilidad por un método analítico determinado. Entre LOD y LOQ existe un rango de concentraciones

en las cuales el método analítico no es capaz de cuantificar con seguridad el analito, pero si manifestar su presencia (Hernández, 2013). Para indicar la sensibilidad del método, entendida como capacidad de detección, la mayoría de investigadores utilizan el límite de detección.

- Intervalo de trabajo. El intervalo de trabajo se define como el tramo de concentraciones en las que el método analítico es capaz de suministrar resultados con una admisible fiabilidad e incertidumbre. El extremo inferior del tramo lo define límite de cuantificación, mientras que el extremo superior va a ir determinado por aquella concentración a partir de la cual se observen anomalías significativas respecto a la sensibilidad analítica del método.
- Linealidad y rango lineal. Con este parámetro se busca demostrar que la función matemática elegida para relacionar las dos variables, es decir, una línea recta, es la correcta y, por tanto, no hay falta de ajuste. En el intervalo lineal la relación Respuesta/Concentración es constante.
- Robustez. Se define como la capacidad que posee un método analítico de permanecer inalterado por pequeñas variaciones de las condiciones operativas y a su vez muestra la fiabilidad del mismo durante su aplicación rutinaria.
- Veracidad: Es la analogía ofrecida entre el valor medio de una serie de medidas producidas por el método de análisis con respecto a un valor aceptado como referencia o valor verdadero. Este parámetro se estima mediante el sesgo o error sistemático (δ) aplicando la siguiente ecuación:

$$\delta = \bar{x} - \mu \text{ (Ec. 4)}$$

Para la estimación del sesgo o error sistemático de cada método se realizan, por triplicado, análisis de una muestra de control. En este trabajo se ha empleado una muestra de PAC-18 (ref. B190006B) analizada el 30 de enero del 2019 por el laboratorio de la Facultad de Ciencias y Tecnología de la Universidad del País Vasco, proporcionando el análisis cuantitativo, mediante ICP-OES e ICP-MS, de los metales presentes en la muestra de coagulante que se indican en la *Tabla II* (Material Complementario). El valor proporcionado por el laboratorio externo fue usado como valor de referencia o verdadero durante el proceso de validación.

- **Precisión**: Es el grado de concordancia entre los valores medidos en un conjunto de mediciones replicadas en relación a un valor medio, dando información acerca de la dispersión de los valores individuales. La variabilidad de los valores individuales otorgados por un método de análisis puede verse afectada por posibles fuentes como instrumentales y técnicos, humanos y ambientales. Según las condiciones experimentales, existen varios tipos de precisión:

- **Repetibilidad**. Es la regularidad de los resultados de una medición realizada sobre una misma muestra mediante el mismo procedimiento analítico empleando el mismo analista, equipo instrumental y mismos reactivos durante un corto intervalo de tiempo.
- **Reproducibilidad**. Es la regularidad de los resultados de una medición obtenida empleando el mismo procedimiento analítico con diferentes analistas, equipos instrumentales, reactivos y/o durante un largo periodo de tiempo. Dicho parámetro se puede determinar efectuando una serie de análisis sobre una muestra de control variando algunas condiciones operativas.

Para estimar estos dos parámetros se realizaron, en diferentes días, medidas replicadas de una misma muestra estable y homogénea.

El análisis de varianza (ANOVA) de una vía de los resultados experimentales permitió descomponer y estimar las dos componentes de la varianza, repetibilidad y reproducibilidad. Previamente se aplicó una prueba de homogeneidad de varianzas (test de Cochran). Finalmente, se aplicó la prueba de rango múltiple para identificar niveles del factor tiempo que pudieran contener datos anómalos. Las ecuaciones empleadas para construir la tabla de ANOVA y para las pruebas de significación se encuentran en la *Tabla IV* del Material Complementario.

- **Incertidumbre de medida**. Es un parámetro asociado al resultado de una medición que da información sobre la dispersión o rango de valores que pueden ser atribuidos con una probabilidad elevada al mesurando. La estimación de la incertidumbre debe tener en cuenta todas las fuentes de variación que afectan al resultado de la medición. Existen varios modelos de estimación de la incertidumbre que se diferencian en la forma de cuantificar las contribuciones a la incertidumbre total. En este trabajo se han aplicado dos metodologías:

- **Modelo “bottom up” (GUM, 2008).** Este modelo logra estimar la incertidumbre de medida de cada uno de los resultados siguiendo una serie de etapas:
 - (i) Etapa 1: Especificación del mesurando y de la ecuación matemática que lo relaciona con las magnitudes de las que depende.
 - (ii) Etapa 2: Identificación y análisis de las fuentes de incertidumbre tanto para aquellas asociadas a las magnitudes de las que depende el mesurando como para aquellas que no están explicitadas en dicha ecuación. Es una etapa crítica que requiere un detallado examen del procedimiento de medida. Es conveniente visualizarlas en un diagrama causa efecto. Las fuentes de variación no explícitas a menudo son difíciles de identificar y de cuantificar.
 - (iii) Etapa 3: Se cuantifican las contribuciones a la incertidumbre como incertidumbres típicas, $u(x)$ y se expresan como desviaciones típicas.
 - (iv) Etapa 4: Estimación de la incertidumbre combinada, así como de la incertidumbre expandida. Las contribuciones individuales se combinan mediante la ley de propagación de error o ecuación general de cálculo de incertidumbre.

$$u_c(y) = \sqrt{\sum \left(\frac{\partial y}{\partial x_i}\right)^2 \cdot u(x_i)^2} \quad (\text{Ec. 5})$$

La incertidumbre combinada se multiplica por un factor de cobertura adecuado. En este caso se va a emplear un factor de cobertura de 2 dando un nivel de confianza aproximado del 95%.

- **Modelo basado en los resultados de la validación.** Este método utiliza los resultados de estimación de precisión y sesgo obtenidos durante la validación siendo estas las principales fuentes de incertidumbre.

Las contribuciones que hay que tener en cuenta son:

 - (i) Incertidumbre causada por la falta de precisión del método analítico (u_{reprod}^2). Este parámetro es estimado como incertidumbre típica A a partir de la varianza de reproducibilidad (s_R^2) previamente estimado mediante un

ANOVA de una vía, como se ha descrito en el apartado anterior. La reproducibilidad se estima mediante la suma de la varianza entre días (s_d^2) y la varianza debida a la repetibilidad (s_r^2).

$$s_R^2 = s_d^2 + s_r^2 \text{ (Ec. 6)}$$

- (ii) Incertidumbre debida al sesgo del método analítico (u_{sesgo}^2). Se estimó la desviación estándar de medidas repetidas de una misma muestra de control (analizada por un laboratorio externo). El sesgo expresado como error absoluto viene dado por la expresión:

$$u_{veracidad}^2 = \left(\frac{s_{\bar{x}_i}^2}{n} \right) + u_{\mu}^2 \text{ (Ec. 7)}$$

donde:

u_{μ} es la incertidumbre de medida del resultado aceptado como valor de referencia o valor verdadero.

$s_{\bar{x}_i}^2$ es la varianza de los resultados medidos en la muestra de control externo

n es el número de ensayos realizados

Una vez que estas contribuciones son expresadas como incertidumbres típicas, se pueden combinar como suma de varianzas y así obtener la incertidumbre combinada.

$$u_c^2 = u_{reprod}^2 + u_{veracidad}^2 \text{ (Ec. 8)}$$

La incertidumbre combinada se multiplica de nuevo por el factor de cobertura para obtener la incertidumbre expandida.

$$U_{expandida} = 2 \cdot u_{combinada} \text{ (Ec. 9)}$$

Todos los cálculos estadísticos han sido realizados con el software estadístico Statgraphics Centurion XVIII (la licencia de la Universidad de Valladolid) y la versión 2016 del software personal de hojas de cálculo Microsoft Excel.

3.4 Calibración de balanzas y material volumétrico

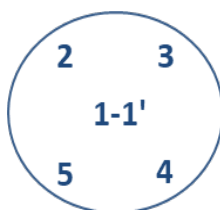
La estimación de las incertidumbres debidas a la masa y al volumen de las diluciones realizadas en ambos métodos es un proceso necesario debido a que son una potencial fuente de error, y estas magnitudes aparecen en la ecuación del mensurando, por lo que su estimación forma parte del método “bottom-up” (GUM, 2008). Para la calibración de balanzas y material volumétrico suele emplearse un procedimiento que sigue el modelo “bottom-up”.

3.4.1. Balanzas

El proceso de medida y las condiciones de trabajo conducen a errores que afectan a las medidas proporcionadas por la balanza. Por ello la estimación de la incertidumbre de este instrumento es necesaria y se deben identificar las posibles fuentes de error. La incertidumbre proporcionada por cada fuente de error se puede estimar de la siguiente manera:

- Excentricidad. Esta fuente de error está asociada a la variación de la masa al pesar en distintos puntos del plato de la balanza, tal y como se indica en la *Figura 3*.

Figura 3. Esquema de puntos del plato de la balanza donde realizar la pesada



Fuente: Elaboración procedente de Dr. Marisol Vega Alegre

La incertidumbre debida a la excentricidad se estimaría tal y como se recoge en la *Ecuación 10*:

$$u_{\text{excentricidad}} = \frac{|\bar{m}_{1-1'} - m_{\text{máx}}|}{\sqrt{3}} \quad (\text{Ec. 10})$$

Donde:

$\bar{m}_{1-1'}$, es la diferencia entre el valor medio de la medición llevada en el punto 1 con la medición llevada en el punto 1' del platillo de la balanza.

$m_{\text{máx}}$, es el valor máximo de pesada obtenido en las seis mediciones.

- Repetibilidad. Este parámetro se determina midiendo repetidamente ($n > 10$) la masa de un objeto (pesa calibrada) para obtener la desviación típica (s) de las medidas, que se divide entre la raíz del número de pesadas realizadas para calcular la incertidumbre típica de repetibilidad.

$$u_{\text{repetibilidad}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (\text{Ec. 11})$$

- Tara. Este parámetro verifica si la balanza es capaz de recuperar el valor de la tara después de realizar la medida. Para ello se coloca una masa en la balanza (en nuestro caso se repitió con pesas calibradas de 30 y 50 g), con la que se tara y se retira, anotando la lectura de la balanza. Posteriormente se pesa la masa para la cual se va a calcular la incertidumbre y se anota el valor medido. Se estima la incertidumbre de la tara mediante la Ecuación 12:

$$u_{\text{tara}} = \frac{|m_{\text{medida}} - m_{\text{esperada}}|}{\sqrt{3}} \quad (\text{Ec. 12})$$

- Histéresis. Este parámetro da a conocer el efecto memoria de la balanza. Para ello se pesa una masa y, una vez estabilizado el valor, se coloca otra masa de diferente magnitud. De nuevo, una vez estabilizado el peso se retira la segunda pesa y se anota el nuevo peso de la primera pesa. La incertidumbre debido a la histéresis se estima mediante la Ecuación 13:

$$u_{\text{histéresis}} = \frac{|m_{\text{final}} - m_{\text{inicial}}|}{\sqrt{3}} \quad (\text{Ec. 13})$$

- La incertidumbre de las diferentes masas patrón empleadas durante la calibración fue estimada por el Laboratorio de Calibración de la UVa, ubicado en la escuela de ingenieros industriales.

Una vez hallada la contribución a la incertidumbre de la masa de cada fuente de error, se obtiene la incertidumbre combinada aplicando la ley de propagación de errores:

$$u_{\text{combinada}}^2 = u_{\text{excentricidad}}^2 + u_{\text{repetibilidad}}^2 + u_{\text{histéresis}}^2 + u_{\text{tara}}^2 + u_{\text{masa patrón}}^2 \quad (\text{Ec. 14})$$

Finalmente, la incertidumbre total expandida de la balanza se obtiene mediante la multiplicación del valor de la incertidumbre combinada por un factor de cobertura (K) siguiendo la *Ecuación 9*.

3.4.2. Material volumétrico

El material volumétrico empleado en ambos métodos ha sido de clase A. El material que se empleo fue matraces aforados de 500 y 100 ml, pipeta de 25 ml y bureta de 50 ml, de la cual solo se halló la incertidumbre para un volumen de 8 ml, valor próximo al volumen de disolución valorante de cinc (II) consumida do en el método volumétrico.

El material volumétrico se calibró por gravimetría, pesando la masa de un líquido contenido en el recipiente de medida de volumen y cuya densidad es perfectamente conocida. Como líquido para la calibración se empleó agua desionizada.

Cada material fue calibrado con la misma técnica. Para los matraces, limpios y secos, se procedió a su tara; una vez lleno y enrasado, se pesó anotando el valor de la masa, repitiendo el procedimiento diez veces.

Para la pipeta se vertió el agua desionizada contenida en la misma en un vaso seco previamente tarado, anotando la masa. Se repitió 10 veces.

La bureta fue calibrada para un volumen de 8 ml, vertiendo dicho volumen de agua desionizada en un vaso seco previamente tarado. Se repitió 10 veces.

Durante la calibración del material, se anotó la temperatura del laboratorio durante la experimentación y se buscó la densidad del agua para esa temperatura. Las incertidumbres individuales debidas a cada contribución se recogen en la *Tabla III*.

Una vez hallada la contribución de incertidumbre de cada fuente de error, se obtiene la incertidumbre combinada aplicando la ley de propagación de errores:

$$u(V) = \sqrt{u(V, rep)^2 + u(V, cal)^2 + u(V, temp)^2} \text{ (Ec. 15)}$$

Por último, la incertidumbre total expandida del volumen se obtiene mediante la multiplicación del valor de la incertidumbre combinada por un factor de cobertura (K), siguiendo la *Ecuación 9*.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Procedencia de las muestras

Para llevar a cabo la validación de ambos métodos fue necesario el empleo de dos muestras diferentes que fueron analizadas en repetidas ocasiones para contabilizar todas las fuentes de error que puedan afectar al resultado final. Dichas muestras fueron la muestra 00043301419, procedente de un lote de producto que actuó como muestra de control interno, y la muestra B190006B, procedente de un *Bach* de producción cuyo contenido de aluminio fue analizado con anterioridad por un laboratorio externo y por ello actuó como muestra de control externo.

4.2 Estudios previos

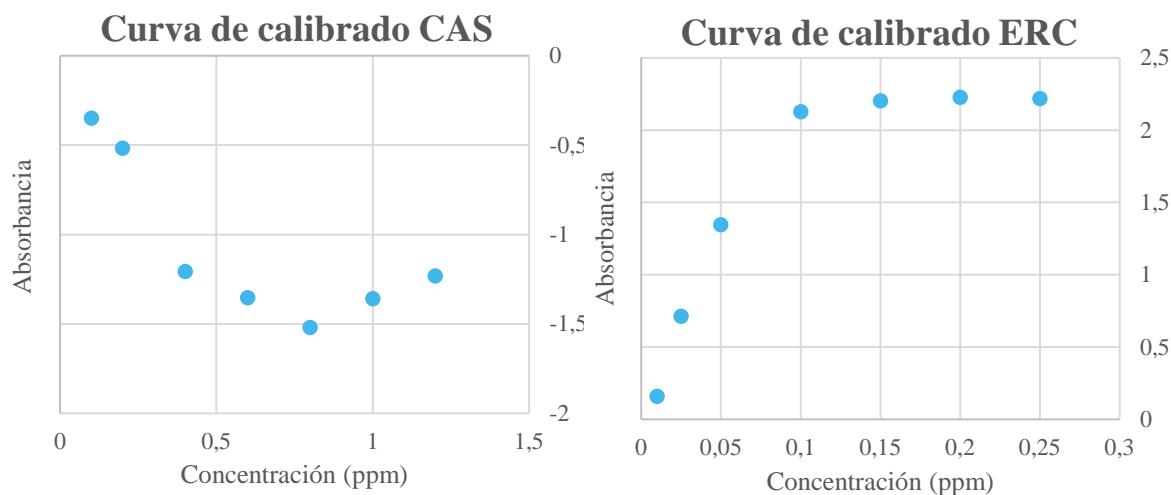
La normativa europea UNE-EN-1302:1999 define como técnica oficial el método volumétrico por retroceso mediante empleo de la sal sódica de dihidrato de ácido etilendiaminotetraacético para el análisis de aluminio en coagulantes a base de aluminio empleados en el tratamiento de agua destinada al consumo humano. A modo comparativo, se plantearon métodos alternativos de análisis de aluminio en este tipo de muestras, optando finalmente por los procedimientos espectroscópicos como metodología de trabajo.

Como primera opción se optó por métodos espectroscópicos moleculares debido al reducido precio del equipamiento necesario y a la facilidad de uso y mantenimiento, lo que convierten esta técnica en una opción asequible para una empresa pequeña. A través de una búsqueda bibliográfica se localizaron los métodos que aparecen reflejados en la *Tabla I* del Material Complementario. Debido a su mayor rango lineal respecto al resto de métodos, se ensayó con el método de Cromoazurol S (CAS) y con el método de Eriocromocianina R (ECR). Mediante el empleo de CAS se obtuvieron resultados insatisfactorios debido a la fuerte coloración del ligando libre, que resultó en la obtención de absorbancias negativas para los patrones de calibración (Figura 4, izquierda) debido a la imposibilidad de corregir correctamente el blanco.

El empleo de ECR como ligando permitió obtener una absorbancia proporcional a la concentración de aluminio, pero el rango lineal era excesivamente estrecho (ver Figura 4, derecha) y el método demasiado sensible para el uso que se pretende, obligando a emplear un gran factor de dilución de la muestra, aumentando la incertidumbre del resultado y limitando la utilidad del método.

En consecuencia, los métodos colorimétricos se descartaron debido a que su empleo es la determinación de aluminio en aguas donde su concentración se encuentra por debajo de las partes por millón, no pudiéndose extrapolar a productos con una concentración mayor.

Figura 4. Curvas de calibrado para la determinación espectrofotométrica de aluminio



Como la espectrometría molecular para el análisis de aluminio en el coagulante PAC-18 no era una opción viable, se optó por la espectrometría atómica. En un primer momento se planteó el uso de la técnica de absorción atómica de llama, cuya instrumentación es relativamente asequible y fácil de mantener para una pequeña empresa; sin embargo, la llama disponible en el laboratorio, de aire/acetileno, provocó una baja atomización del elemento al no tener suficiente energía. Finalmente, se optó por elegir para la comparación de métodos la técnica de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente, ya que la elevada temperatura alcanzada en el plasma de argón (hasta 8.000°C), solventa las dificultades de atomización del elemento.

4.3 Incertidumbre de la masa y del material volumétrico

4.3.1. Balanzas

Las muestras se pesaron con una balanza analítica de precisión monoplato (Sartorius 1601 AMP8-1), con un rango de trabajo de 0 a 120 g. Para llevar a cabo la calibración se utilizó un juego de pesas patrón certificadas de 0.1, 1 y 5 g. Las masas elegidas para la calibración de la balanza cubren el rango de las masas de muestra empleadas en el método volumétrico (5 g) y espectroscópico (0.1 g). En la *Figura 5* se representa la variación de la incertidumbre

combinada de estas masas en función de su masa nominal. Se puede apreciar que entre ambas magnitudes se cumple una relación potencial.

Figura 5. Representación de la incertidumbre combinada frente a la masa nominal de las pesas.

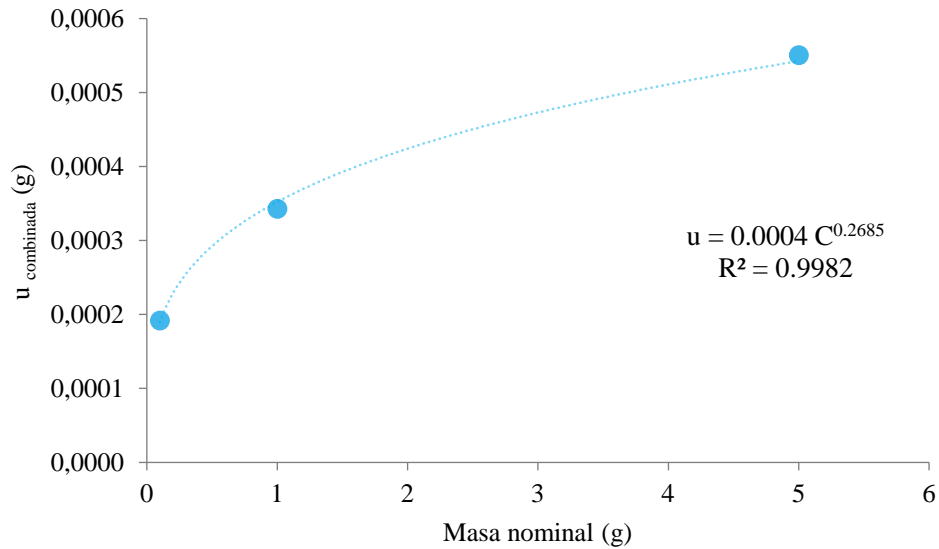


Figura 6. Contribuciones de incertidumbre individuales en función de la masa

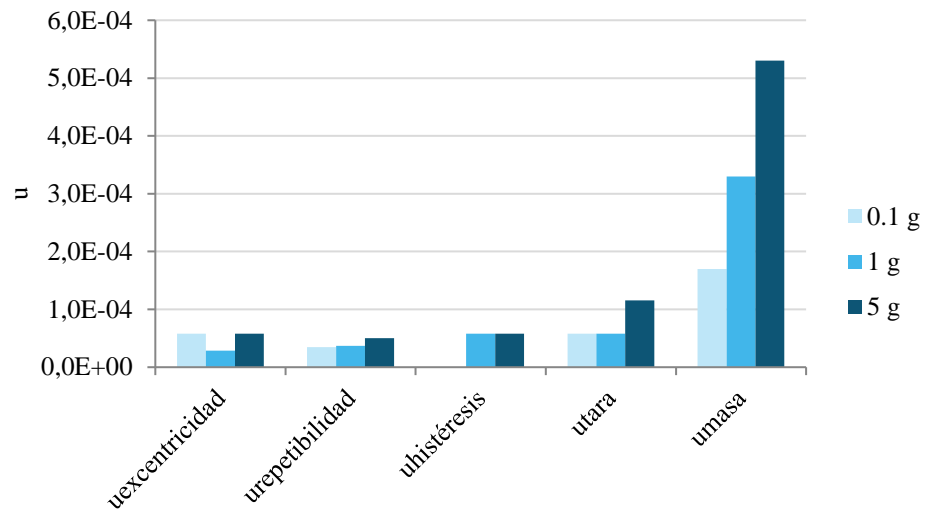
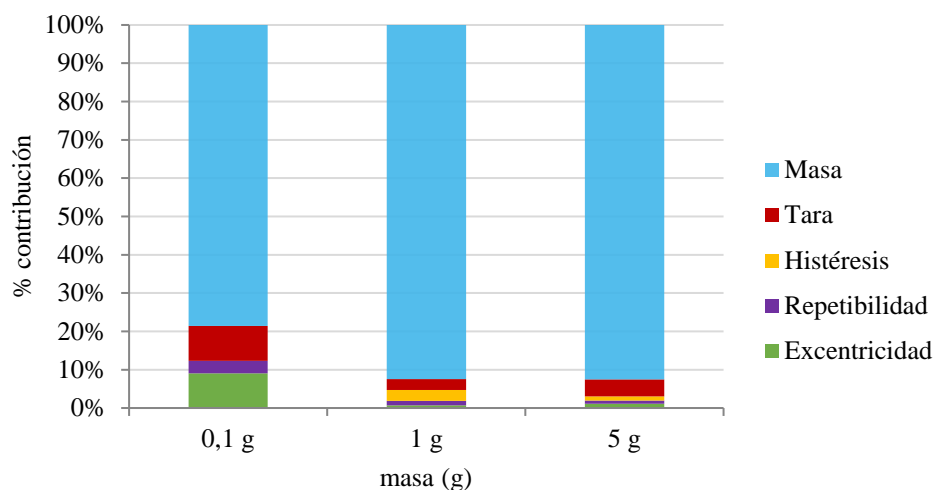


Figura 7. Porcentaje de contribución a la incertidumbre en función de la masa

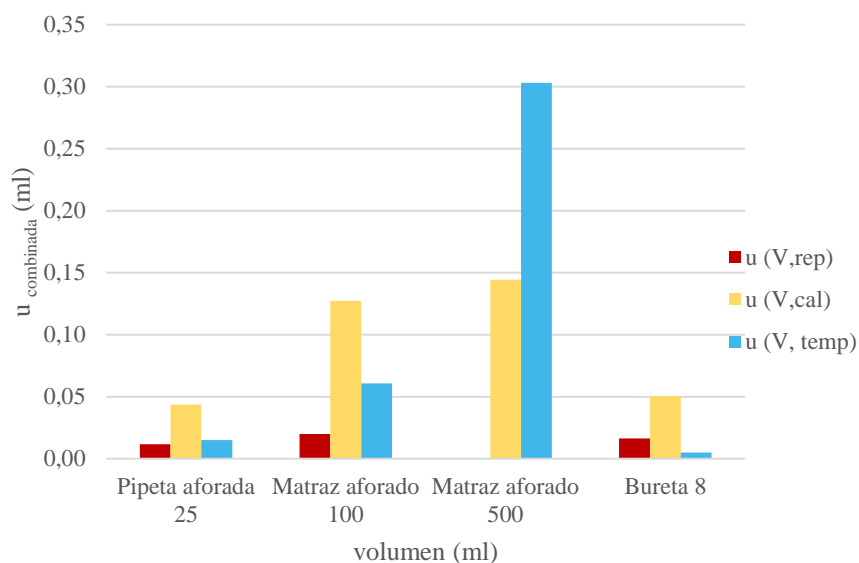
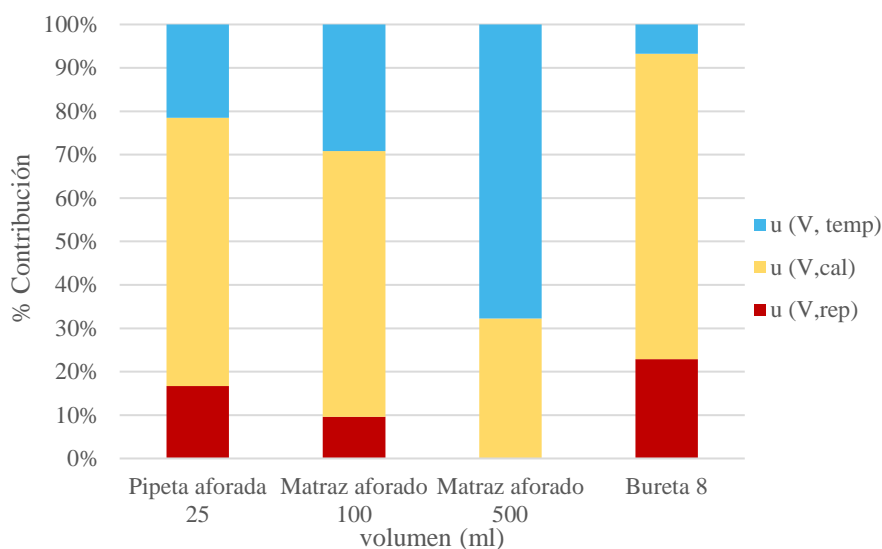


En las *Figuras 6 y 7* se representan las contribuciones individuales más significativas en la incertidumbre total. Se puede apreciar que la contribución individual más significativa en todo el rango de masa es la debida a la masa patrón, aunque para la masa más pequeña, 0.1 g, las contribuciones de la tara y de la excentricidad son también relevantes.

Por el contrario, la histéresis y la repetibilidad son en general contribuciones menores. La elevada contribución a la incertidumbre total de la masa patrón podría reducirse mediante el empleo de un juego de pesas patrón de mejor calidad.

4.3.2. Material volumétrico

En la *Figura 9* se representa la magnitud de las diferentes contribuciones a la incertidumbre combinada del material volumétrico, en valor absoluto y en porcentaje, en función de su volumen nominal.

Figura 9. Porcentaje de contribución a la incertidumbre en función del material volumétrico**Figura 8.** Contribuciones individuales a la incertidumbre total

En estos gráficos se puede observar como la incertidumbre debida a la repetibilidad es la incertidumbre individual que menos contribuye a la incertidumbre total. El matraz de 500 ml no pudo ser calibrado ni su incertidumbre de repetibilidad estimada al no disponer de una balanza con la capacidad necesaria; la componente de calibración en este caso se estimó a partir de la tolerancia proporcionada por el fabricante. De forma general, la incertidumbre más contribuye es la de calibración seguida, en el caso de material aforado, de la contribución de la temperatura, mientras que la segunda fuente de incertidumbre en importancia en el caso de la bureta fue la repetibilidad.

4.4 Validación y estimación de la incertidumbre de medida del método complexométrico.

4.4.1. Intervalo de trabajo

El intervalo de trabajo del método complexométrico se estimó teóricamente, partiendo de la cantidad mínima y máxima detectable por el método si fuese aplicado sin modificar las cantidades de muestra ni reactivos empleadas. En un método complexométrico, el volumen más pequeño de disolución patrón de cinc que se puede medir en una bureta de 50 ml es 0.1 ml, es decir la mínima variación que el detector, el ojo del experimentador, puede detectar.

Por otro lado, dado que es una valoración por retroceso y se añaden 25 ml de reactivo valorante, AEDT, el volumen máximo de cinc que se puede medir, suponiendo la presencia de aluminio en la muestra, es 24.9 ml. Por lo tanto, sabiendo el volumen mínimo y máximo que se puede gastar y suponiendo una masa de muestra de 5 g de muestra, se obtienen los siguientes valores empleando la *ecuación 1*.

Tabla 3. Intervalo de trabajo para la determinación de aluminio por método complexométrico para el cloruro de polialuminio

Zn ²⁺ (ml) consumido	%Al ₂ O ₃
0.1	25.380
24.9	0.102

4.4.2. Límite de detección y límite de cuantificación

Puede hacerse una estimación teórica del LOD partiendo de la mínima cantidad de valorante que puede ser medido (0.1 ml), como se ha mostrado en el apartado 4.2.1, proporcionando un porcentaje mínimo del 0.102 de óxido de aluminio que puede ser detectado por la técnica.

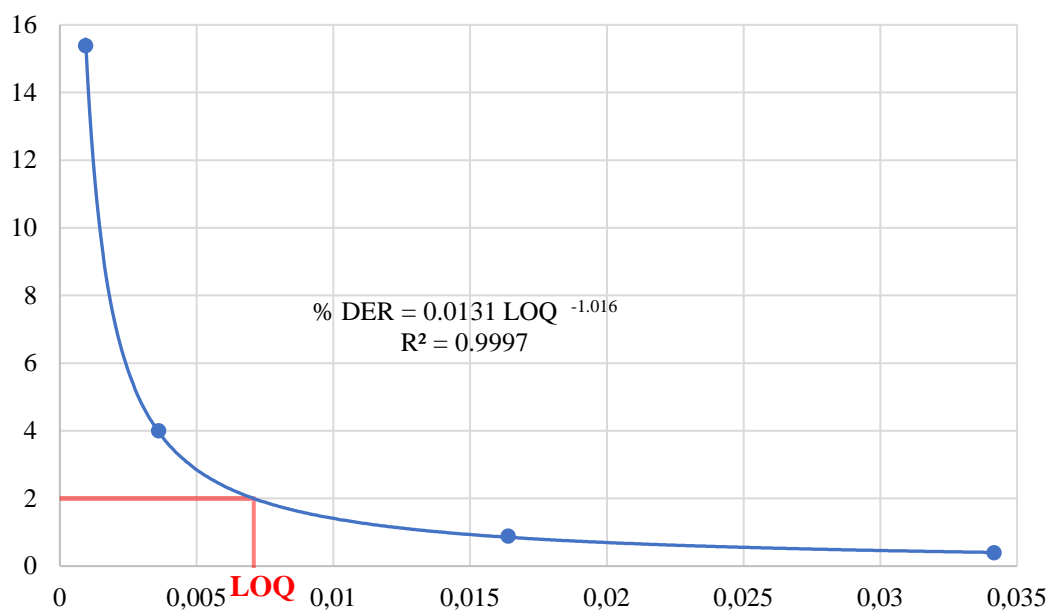
De forma experimental se quiso determinar el límite de cuantificación del método para el producto PAC-18. Para ello, se prepararon disoluciones de coagulante disolviendo diferentes masas de muestra (0.1, 0.5, 2.5 y 5 g) en 500 ml, de las que se valoraron complexométricamente, por triplicado, alícuotas de 25 ml, y se representó la desviación estándar relativa (%DER) respecto de la concentración del analito en la disolución. Los resultados se muestran en la *Figura 10*.

De la función que relaciona el %DER y la concentración de aluminio puede calcularse el LOQ para una imprecisión dada.

$$\text{LOQ}(\text{mol/L}) = 10^{\frac{\log(0.0131/\% \text{DER})}{1.016}}$$

El límite de cuantificación será aquel correspondiente con la concentración del analito a partir de la cual no cumple el criterio de precisión establecido. Para el análisis complexométrico de aluminio en PAC-18 se estableció un criterio de precisión de %DER=2, dando un valor de LOQ de 7.1×10^{-3} M (3.6 % de Al_2O_3). Para determinar aluminio en coagulantes con menor contenido del metal sería preciso modificar el método disminuyendo el factor de dilución de la muestra.

Figura 10. Cálculo experimental de LOQ para la valoración complexométrica del aluminio



4.4.3. Veracidad

Tomando como referencia el porcentaje de aluminio obtenido por el laboratorio externo, se evaluó el error sistemático del método. Para ello se realizaron un total de diez análisis de la muestra B190006B, en días alternos, obteniendo un sesgo absoluto de -0.193 y un sesgo relativo de -1.06. Este valor indica que el método complexométrico tiene unas desviaciones por defecto respecto al valor de referencia.

Tabla 4. Resultados obtenidos en el análisis del material de control externo mediante complexometría

Día	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
g Al/ kg muestra	91.26	90.57	89.90	89.23	90.19	89.74	90.03	90.39	90.07	89.68
% Al₂O₃	17.24	17.24	17.24	17.24	17.24	17.24	17.24	17.24	17.24	17.24

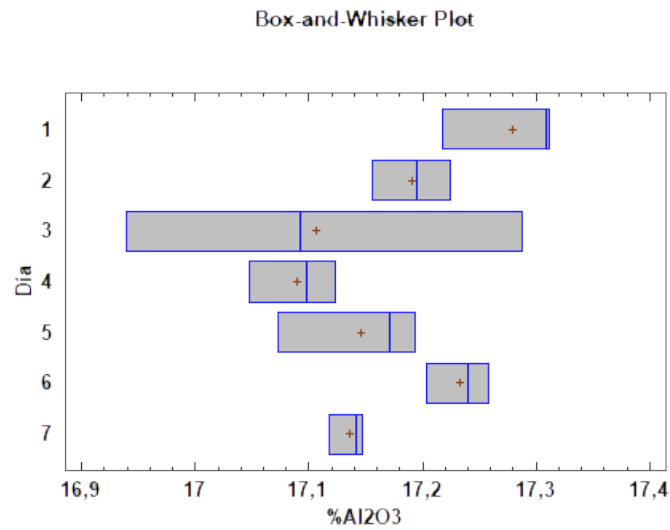
4.4.4. Precisión

Para evaluar el parámetro de precisión, se estimó mediante el empleo de un ANOVA de una vía. Para ello se determinó el contenido de aluminio en una misma muestra de coagulante durante quince días, en días alternos y por triplicado. Los resultados experimentales se muestran en la *Tabla 5*.

Tabla 5. Porcentaje de Al₂O₃ obtenido mediante el método complexométrico

Día	1	2	3	4	5	6	7
Réplica 1	17,31	17,22	17,29	17,05	17,07	17,24	17,14
Réplica 2	17,31	17,19	16,94	17,12	17,17	17,26	17,12
Réplica 3	17,22	17,16	17,09	17,10	17,19	17,20	17,15

Previo al ANOVA, se realizó el test de Cochran con objeto de conocer si todas las columnas (factor día) poseen varianzas similares u homogéneas, requisito exigido por el ANOVA. El valor resultante del estadístico C fue $C_{cal} = 0.741$, superior al valor crítico, $C_{crit} = 0.561$, indicando diferencias estadísticamente significativas entre las desviaciones estándar obtenidas en días diferentes. Visualmente se puede ver mediante gráficos *box-plot* como se ilustran en la *Figura 11*, pudiéndose observar como el día 3 se obtuvo una varianza muy grande en comparación al resto de días; por ese motivo, se eliminó la columna 3 y se realizó el ANOVA, obteniéndose la tabla de ANOVA reflejada en la *Tabla 6*.

Figura 11. Gráfico *boxplot* para los resultados obtenidos mediante el método complexométrico.**Tabla 6.** Tabla de ANOVA para %Al₂O₃ para el factor tiempo (día)

FUENTE	SS	DF	MS	F	F _{crit}	p
<i>Entre columnas</i>	0.0730	5	0.0146	8.180	3.106	0.001
<i>Dentro de columnas</i>	0.0214	12	0.0018			
Total	0.0944	17				

El ANOVA descompone la varianza en dos componentes: entre columnas y dentro de columnas. El estadístico F es igual a 8.180, superior al valor crítico (p a posteriori < 0.05), por lo que la hipótesis nula H_0 debe ser rechazada, es decir, existen diferencias significativas entre los resultados de %Al₂O₃ obtenidos en días diferentes.

A partir de los valores de cuadrados medios de las dos fuentes de variación, dentro de las columnas y entre columnas, se estiman las varianzas de repetibilidad y reproducibilidad:

$$s_r^2 = MS_{dentro} = 0.0018$$

$$s_{día}^2 = \frac{MS_{entre} - MS_{dentro}}{n} = 0.0043$$

Siendo n el número de réplicas realizadas cada día (3).

$$s_R^2 = s_r^2 + s_{dia}^2 = 0.0061$$

La precisión de repetibilidad y reproducibilidad, expresadas como desviaciones estándar relativas, fueron $\%DER_r = 0.25$ y $\%DER_R = 0.45$.

4.4.5. Estimación de la incertidumbre de medida

- Modelo “botom-up”.

En primer lugar, se especificó la ecuación que relaciona el porcentaje de óxido de aluminio con todas aquellas magnitudes de las que puede depender el método volumétrico,

$$\%Al_2O_3 = \frac{\left[\left(C_{Y^{4-}} V_{2,Y^{4-}} - \frac{V_{Mg^{2+}} C_{Mg^{2+}}}{C_{Y^{4-}} V_{Y^{4-}}} \right) - \left(C_{Zn^{2+}} V_{Zn^{2+}} - \frac{V_{1,Y^{4-}} C_{Y^{4-}}}{C_{Y^{4-}} V_{0,Y^{4-}}} \frac{V_{Mg^{2+}} C_{Mg^{2+}}}{C_{Y^{4-}} V_{0,Y^{4-}}} \right) \right] \times M_{molec Al_2O_3} \times 500 \times 100}{1000 \times 2 \times 25 \times m_{muestra}} \quad (Ec. 16)$$

Donde:

$C_{Y^{4-}}$ es la concentración, en mol/l, de la disolución de AEDT.

$V_{0,Y^{4-}}$ es el volumen, en ml, de la disolución valorada de AEDT gastado en la valoración para la normalización de la disolución de AEDT frente a Mg^{2+} .

$V_{1,Y^{4-}}$ es el volumen, en ml, de la disolución valorada de AEDT gastado en la valoración para la normalización de la disolución de Zn^{2+} .

$V_{2,Y^{4-}}$ es el volumen, en ml, de AEDT adicionado a la muestra para su correspondiente valoración por retroceso.

$C_{Zn^{2+}}$ es la concentración nominal, en mol/l, de la disolución de cinc.

$V_{Zn^{2+}}$ es el volumen, en ml, de la disolución valorada de cloruro de cinc gastada en valorar el exceso de AEDT.

$C_{Mg^{2+}}$ es la concentración, en mol/l, de la disolución de sulfato de magnesio empleada como patrón certificado.

$V_{Mg^{2+}}$ es el volumen, en ml, de la disolución de sulfato de magnesio empleada como patrón certificado.

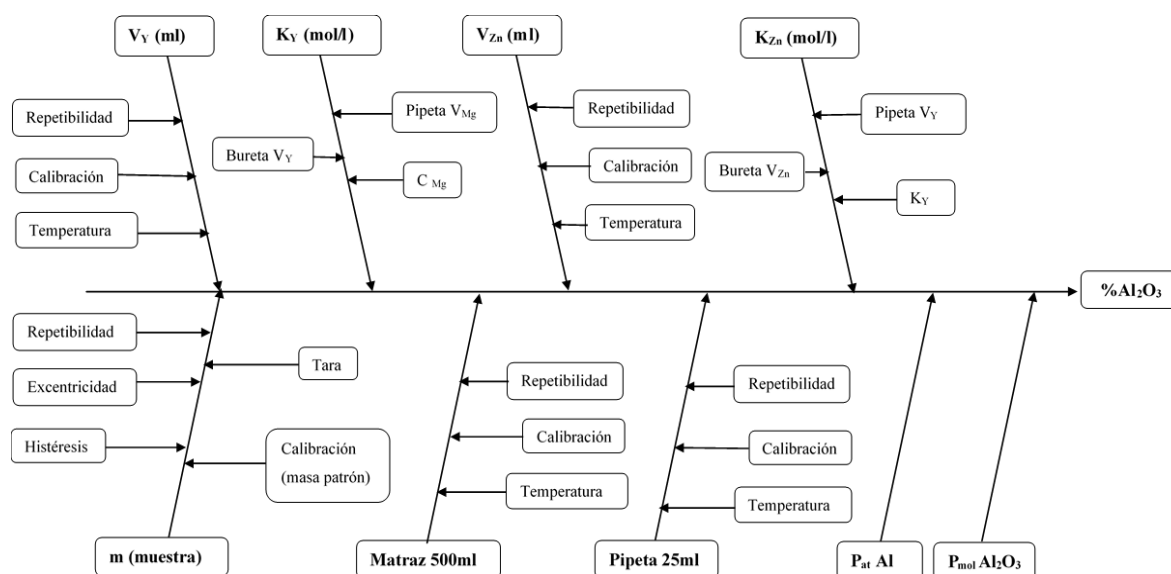
$M_{molec Al_2O_3}$, es la masa molecular, en g/ mol, del óxido de aluminio.

$m_{muestra}$ es la masa, en g, de la muestra.

500 y 25 es el volumen, en ml, de la disolución total de la muestra y del volumen valorado, respectivamente.

Posteriormente se identificaron las posibles fuentes de error del método complexométrico las cuales van a contribuir a la incertidumbre total del porcentaje de óxido de aluminio. Para visualizar dichas fuentes se empleó un diagrama *fish-bone* (espina de pescado), tal y como se recoge en la *Figura 12*.

Figura 12. Diagrama causa-efecto o *fish-bone* del método complexométrico

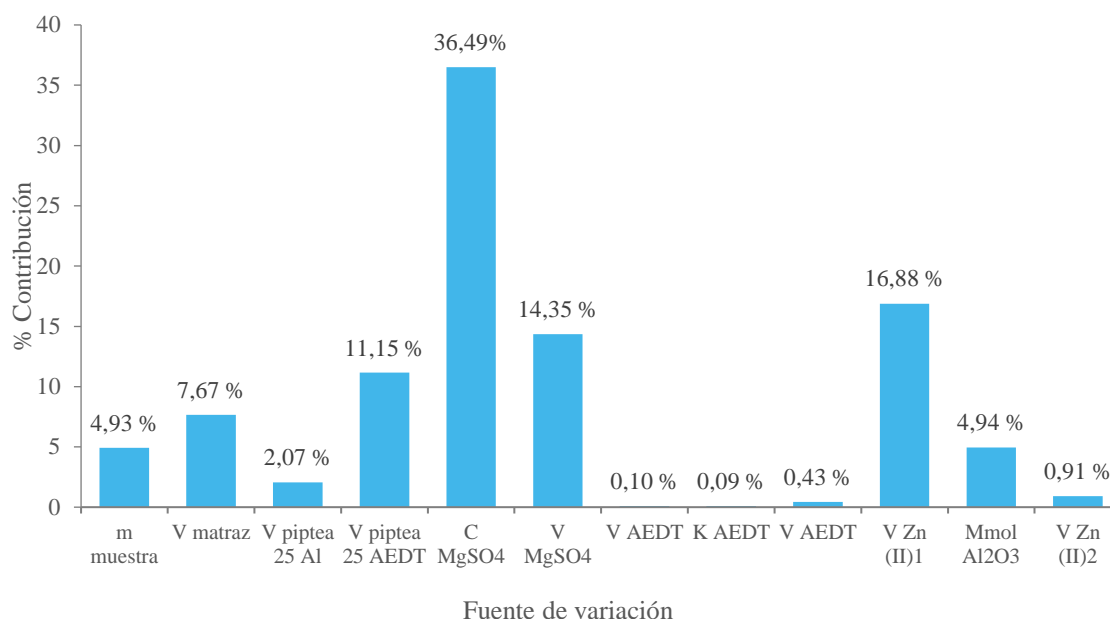


Una vez identificadas, se estimaron como desviaciones estándar o incertidumbres típicas para finalmente ser combinadas mediante la ley de propagación del error (Ecuación 5) para dar la incertidumbre combinada. Finalmente se multiplica la incertidumbre combinada por el factor de cobertura 2 para obtener la incertidumbre expandida (Ecuación 9).

Tabla 7. Resultados de incertidumbre combinada y expandida estimada por el método GUM

Incertidumbre combinada (%Al₂O₃)	0.27
Incertidumbre expandida (%Al₂O₃)	0.53

En la *Figura 12* se representan las incertidumbres típicas del método complexométrico para conocer la contribución de cada una a la incertidumbre total.

Figura 12. Porcentaje de contribución de incertidumbres típicas en la determinación de aluminio por método volumétrico.

En el gráfico se puede ver que las contribuciones más grandes son causadas por la concentración del patrón primario (36.49%), seguida del volumen de cinc consumido para el cálculo de su factor de titulación (16.88%) y del volumen consumido de sulfato de magnesio durante la valoración de AEDT para hallar su factor de titulación (14.35%). La principal contribución puede disminuirse mediante el empleo de carbonato cálcico sólido puro como patrón primario o mediante el empleo de un patrón de sulfato de magnesio de mayor calidad.

- Modelo basado en los resultados de la validación.

A partir de las varianzas de reproducibilidad, s^2_R , y de la varianza debida al sesgo (ecuación 7) se pudo estimar la incertidumbre combinada, como se indicó en el capítulo de Materiales y Métodos, obteniendo una incertidumbre de la medida del 9.71%.

Tabla 8. Cálculo de la incertidumbre del método complexométrico mediante el modelo basado en los resultados de la validación

u_R^2	u_δ^2	u_c	U	$U_{rel} (\%)$
0.0061	0.6896	0.8341	1.67	9.7

4.5 Validación y estimación de la incertidumbre de medida del método ICP-OES.

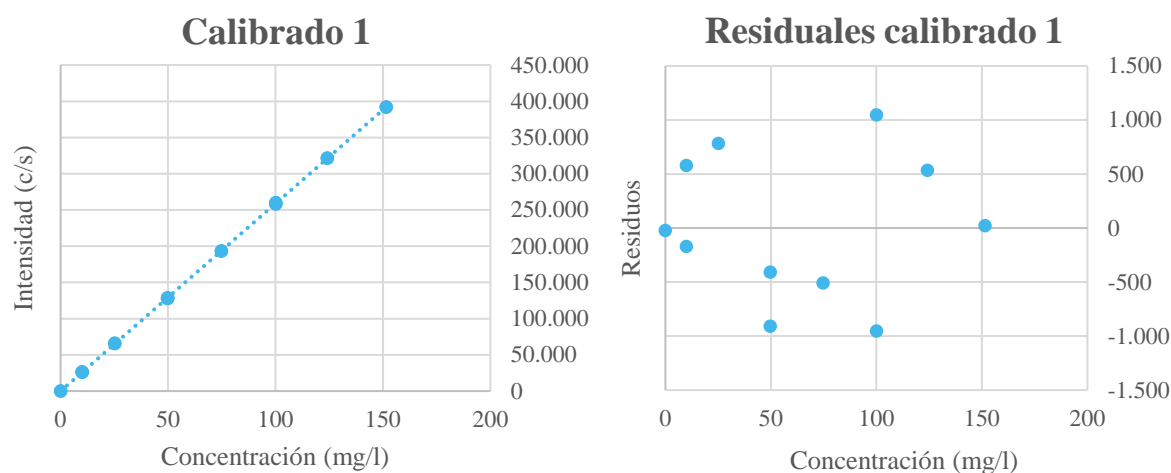
4.5.1 Linealidad y rango lineal

Para evaluar la linealidad del método se midieron por duplicado tres patrones de la curva de calibrado obteniendo un total de once puntos para una misma recta. Se recogieron los resultados y se utilizó el programa Statgraphics para aplicar la prueba estadística de falta de ajuste. Esta prueba está diseñada para comprobar si el modelo elegido, es decir, una línea recta, es adecuado para describir los datos observados o bien se debe emplear un modelo más complicado.

La prueba está fundamentada en la comparación de la varianza debida a la presunta falta de ajuste con la variabilidad experimental estimada mediante observaciones replicadas de la variable independiente X. El valor p para la falta de ajuste en la tabla de ANOVA fue 0.821 es decir, mayor que 0.05 y por ello el modelo lineal parece apropiado a un nivel de confianza del 95% para los datos observados.

Además, se determinó siguiendo el método de mínimos cuadrados el coeficiente de determinación (r^2) resultando del orden 0.999, es decir, este parámetro indica que el 99.9% de la variación de la variable dependiente, intensidad de emisión del analito, se explica por la variable independiente concentración. Se analizó el gráfico de los residuales observando que son homocedásticos. Muestras de ambos gráficos se recogen en la *Figura 13*.

Figura 13. Línea de calibrado y gráfico de residuales para la curva de calibrado 1



Puesto que no hay una carencia de ajuste, existe una buena correlación y los errores residuales son homocedásticos, se puede extraer como conclusión que la relación intensidad-concentración es lineal en todo el intervalo de concentraciones medidas

4.5.2 Robustez

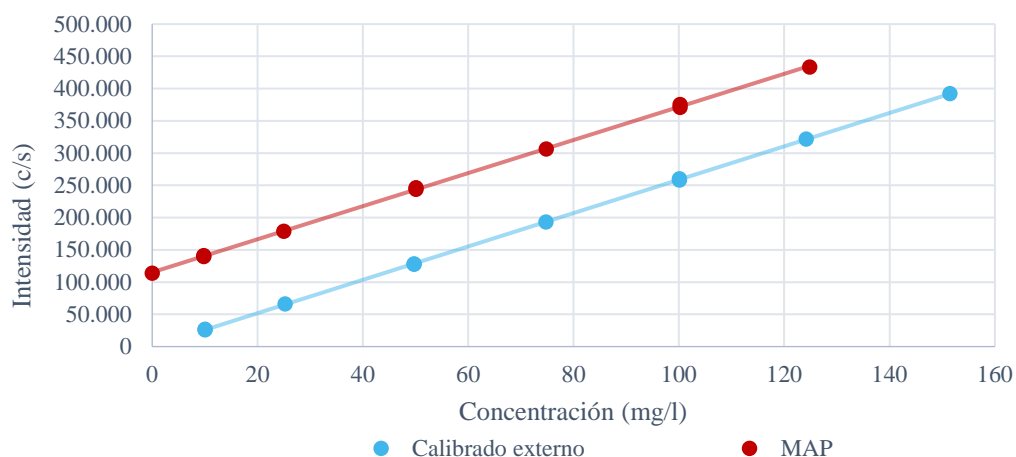
Para la evaluación de este parámetro se comparó la curva de calibrado obtenida con patrones puros en ácido nítrico al 4% con la curva de calibrado obtenida por el método de adiciones estándar o patrón (MAP). Con esta comparativa se busca ver si el método es o no sensible al efecto matriz.

Para ello, a 10 ml de disolución de muestra se añadieron cantidades crecientes de disolución patrón de aluminio y se determinó por ICP-OES en las mismas condiciones de medida que los patrones de la curva de calibrado.

En la *Figura 14* se han representado conjuntamente la recta de calibrado de patrones puros y la obtenida por el método de adiciones patrón. Se observa que las dos rectas tienen pendientes muy similares, indicando que el efecto matriz es despreciable pues no altera la señal analítica del aluminio.

Para asegurar con criterio estadístico la similitud de las pendientes de ambos métodos de calibración, se aplicó una prueba t de comparación de pendientes (Massart et al., 1988), comprobándose que no existen diferencias significativas entre las mismas (p a posteriori = 0.999), como ya se intuía de la observación visual de las rectas de calibrado.

Figura 14. Comparación de la curva de calibración con adición estándar y la curva de calibrado externo



Por todo ello se concluye que el método ICP-OES es robusto frente a la matriz analítica de la muestra.

4.5.3 Límite de detección y límite de cuantificación.

La obtención de los parámetros LOD y LOQ del método instrumental se realizó a partir de las cuatro curvas de calibración obtenidas durante el proceso de validación. A partir de los parámetros de regresión de las rectas de calibrado se estimaron LOD y LOQ:

$$\text{LOD} = \frac{3.29 \cdot \bar{s}_e}{\bar{b}} \quad (\text{Ec. 17})$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \cdot \bar{s}_e}{\bar{b}} \quad (\text{Ec. 18})$$

Donde:

\bar{s}_e es la media del error típico de las cuatro curvas de calibración

\bar{b} es la media de las pendientes de las cuatro curvas de calibración

Tabla 9. Límites de detección y cuantificación para el ICP-OES para el cloruro de polialuminio.

Parámetro	C (mg/l)	%Al ₂ O ₃
LOD	1.70	0.32
LOQ	5.18	0.98

Datos obtenidos al aplicar las Ecuaciones 17 y 18 suponiendo que la masa de la muestra es 0.1 g y el volumen donde es diluida es de 100 ml.

4.5.4 Intervalo de trabajo

El intervalo de trabajo empleado en el método instrumental fue de 0 a 150 mg Al³⁺/l, donde se observa una clara linealidad en las condiciones de trabajo anteriormente descritas.

4.5.5 Veracidad

Siguiendo la misma línea de trabajo realizada con el método complexométrico, se realizaron medidas triplicadas por ICP-OES, en cinco días alternos, de la misma muestra de control externo y se comparó cada resultado medio obtenido cada día con el proporcionado por el laboratorio externo para estimar el sesgo *Tabla 10*.

Tabla 10. Valores obtenidos en el análisis del material de control externo mediante ICP-OES

Día	1	2	3	4	5
C media (mg/l)	102.50	105.61	95.68	107.88	117.79
% Al ₂ O ₃	16.02	15.91	15.82	16.07	15.75

Se obtuvo como resultado un sesgo absoluto de -1.30 y un sesgo relativo de -7.54%. Al igual que el método complexométrico, el método instrumental posee unas desviaciones por defecto respecto al valor verdadero, pero con una mayor magnitud que en el método anterior.

4.5.6 Precisión

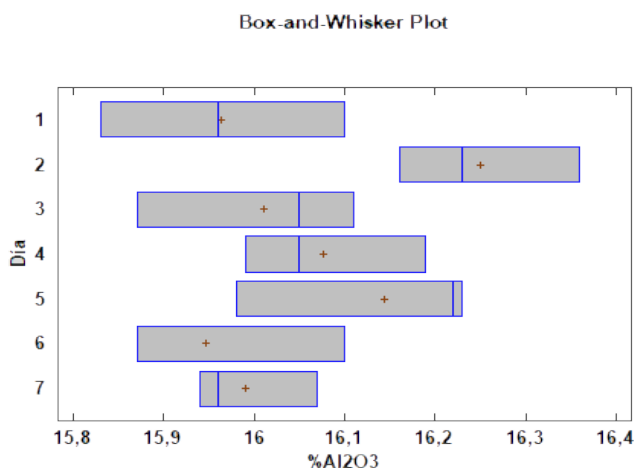
Para estimar este parámetro para el método ICP-OES, se empleó un ANOVA de una vía. Para su elaboración fue necesaria la determinación de aluminio en la muestra de control interno durante quince días, en días alternos y por triplicado, haciendo tres lecturas de cada de cada disolución. La *Tabla 11* muestra los resultados medios de cada réplica realizada diariamente.

Tabla 11. % de Al_2O_3 obtenidos por ICP-OES.

<i>Día</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
<i>Réplica1</i>	15.83	16.16	16.05	16.19	15.98	15.87	16.07
<i>Réplica2</i>	16.10	16.23	15.87	15.99	16.22	15.87	15.94
<i>Réplica3</i>	15.96	16.36	16.11	16.05	16.23	16.10	15.96

Previo al ANOVA se aplicó el test de Cochran con objeto de conocer si todas las columnas poseen varianzas similares u homogéneas, requisito exigido por el ANOVA. El valor resultante del estadístico fue de 0.206, inferior al valor C_{crit} de 0.561, indicando que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las desviaciones estándar obtenidas en los diferentes días. El gráfico *box-plot* mostrado en la *Figura 15* permite apreciar visualmente la homogeneidad de varianzas entre días.

Figura 15. Gráfico *box-plot* para los resultados obtenidos mediante el método ICP-OES



Una vez comprobado la homogeneidad de las varianzas, se obtuvo la tabla de ANOVA que se recoge en la *Tabla 12*.

Tabla 12. Tabla de ANOVA para %Al₂O₃ por día, determinado por ICP-OES

FUENTE	SS	DF	MS	F	F _{crit}	p
<i>Entre columnas</i>	0.2180	6	0.0363	2.620	2.848	0.065
<i>Dentro de columnas</i>	0.1945	14	0.0139			
Total	0.4125	20				

El estadístico F calculado (2.620) es inferior en este caso al valor crítico (2.848), por lo que se acepta la hipótesis nula H₀, es decir, no existen diferencias significativas entre los resultados de %Al₂O₃ obtenidos a lo largo del tiempo.

Como en el método complexométrico, a partir de los valores de cuadrados medios de las dos fuentes de variación, repetibilidad y día, se estiman las varianzas de repetibilidad y reproducibilidad:

$$s_r^2 = MS_{dentro} = 0.0139$$

$$s_{día}^2 = \frac{MS_{entre} - MS_{dentro}}{n} = 0.0075$$

Siendo n el número de réplicas realizadas cada día (3).

$$s_R^2 = s_r^2 + s_{día}^2 = 0.0214$$

La precisión de repetibilidad y reproducibilidad, expresadas como desviaciones estándar relativas, fueron %DER_r = 0.73 y %DER_R = 0.91.

4.5.7 Estimación de la incertidumbre de medida

- Modelo “botom-up”.

Siguiendo la metodología procedimiento ya descrita, se especificó la ecuación que relaciona el porcentaje de óxido de aluminio con todas aquellas magnitudes experimentales con que se relaciona en el método ICP-OES.

$$\% \text{Al}_2\text{O}_3 = \frac{C_{\text{dil}} \times V_{\text{matraz}} \times M_{\text{molecAl}_2\text{O}_3} \times 100}{1000\,000 \times 2 \times M_{\text{atomAl}} \times m_{\text{muestra}}} \quad (\text{Ec. 19})$$

Donde:

C_{dil} es la concentración, en mg/l, de aluminio en la muestra obtenida por interpolación en la línea de calibrado.

V_{matraz} es el volumen del matraz, en ml, donde se ha diluido la muestra.

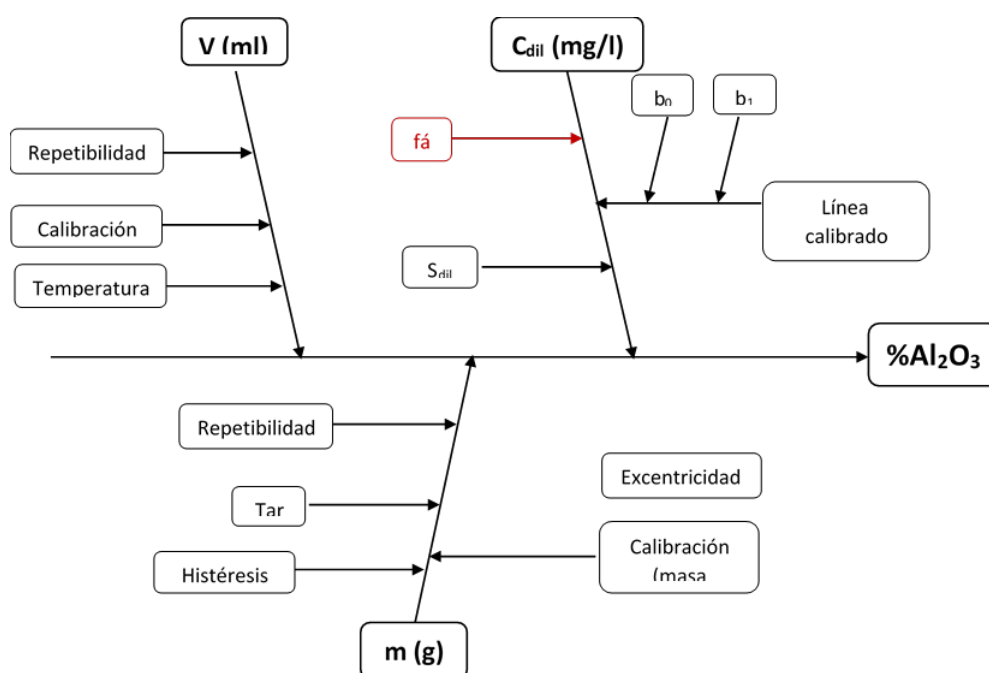
$M_{\text{molecAl}_2\text{O}_3}$ es la masa molecular, en g/mol, del óxido de aluminio.

M_{atomAl} es la masa atómica, en g/mol, de aluminio.

m_{muestra} es la masa, en g, de la muestra.

Se identificaron las posibles fuentes de error del método instrumental, las cuales van a contribuir a la incertidumbre total del porcentaje de óxido de aluminio. Para visualizar dichas fuentes se empleó un diagrama *fish-bone* (espina de pescado) tal y como se recoge en la Figura 17.

Figura 16. Diagrama causa-efecto o *fish-bone* para el método ICP-OES



Una vez identificadas las contribuciones significativas (se despreciaron las contribuciones de las masas atómicas y moleculares), se estimaron como incertidumbres típicas para finalmente ser combinadas para dar la incertidumbre combinada mediante la ley de

propagación del error. Puesto que en la *Ecuación 19* solo existen términos multiplicativos, la *Ecuación 5* se puede simplificar como:

$$u_c(C, \%Al_2O_3) = C(\%Al_2O_3) \sqrt{\left(\frac{u_c(C, mg/l)}{C (mg/l)}\right)^2 + \left(\frac{u_c(V, ml)}{V (ml)}\right)^2 + \left(\frac{u_c(m, g)}{m (g)}\right)^2} \quad (\text{Ec. 20})$$

Donde C mg/l es la concentración obtenida por interpolación en la recta de calibrado, cuya incertidumbre se calcula como (Magnusson y Örnemark.,2014):

$$u_c\left(C, \frac{mg}{l}\right) = \frac{s_e}{b_1} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(I_{\text{muestra}} - \bar{I}_p)^2}{b_1^2 \sum (C_i - \bar{C}_p)^2}} \quad (\text{Ec. 21})$$

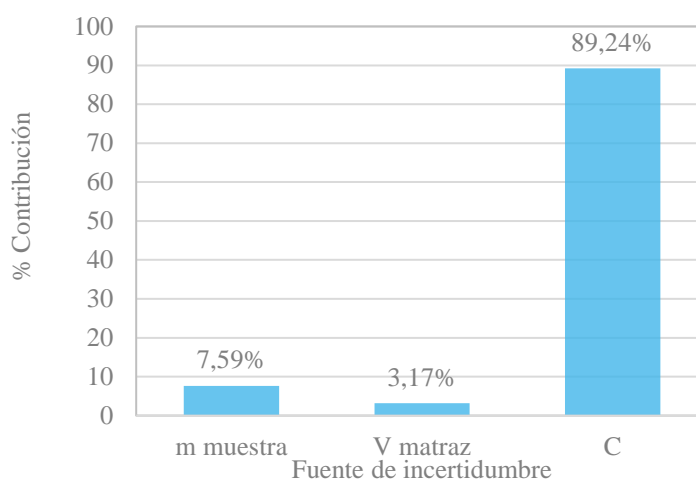
m es el número de lecturas que realiza el instrumento con cada disolución (3), n el número de puntos de la recta de calibrado, b_1 la pendiente de la línea de calibrado, s_e el error típico del ajuste, I la intensidad de emisión de muestras y patrones, y C_i la concentración de cada patrón.

Finalmente se multiplica la incertidumbre combinada por el factor de cobertura 2 para obtener la incertidumbre expandida (*Ecuación 9*).

Los resultados de incertidumbre expandida de todas las mediciones realizadas durante oscilaron entre 0.1 y 0.2 %Al₂O₃.

En la *Figura 17* se representan las incertidumbres típicas para el método instrumental propuesto.

Figura 17. Contribución de incertidumbres típicas en la determinación de aluminio por ICP-OES



Como se puede observar, la mayor fuente de incertidumbre es debida concentración de la disolución de aluminio, y está relacionada con los errores residuales del ajuste, principalmente. Se podría disminuir mejorando la precisión del instrumento y de la preparación de patrones, mejorando la sensibilidad del método y midiendo lo más cerca posible del centroide de la recta de calibrado.

- **Modelo basado en los resultados de la validación.**

Se siguió el procedimiento ya descrito para el método complexométrico y se estimó la incertidumbre del método ICP-OES para el análisis de aluminio, obteniendo una incertidumbre relativa de la medida del 9.8.

Tabla 13. Incertidumbre del método ICP-OES mediante el modelo basado en los resultados de la validación

u_R^2	u_δ^2	u_c	U	$U_{rel} (\%)$
0.0214	0.6922	0.8357	1.69	9.8

4.6 Comparación de métodos.

La veracidad, precisión e incertidumbre son parámetros técnicos que se emplean para describir la calidad de los resultados obtenidos con un método analítico. En el presente trabajo de fin de grado se hallaron dichos términos para el método volumétrico empleado de forma rutinaria en la empresa fabricante del coagulante PAC-18, como para el método de espectrometría atómica propuesto, ICP-OES.

Analizando los resultados obtenidos reflejados en la *Tabla 14* se puede ver que el intervalo de trabajo del método instrumental es similar al del método volumétrico, pero los límites de detección y cuantificación son más bajos en ICP-OES. El estudio de la veracidad proporcionó en ambos casos sesgos negativos, siendo el error mayor para el método ICP-OES. La incertidumbre en ambos métodos es similar (<2%), mediante su estimación basado en los resultados de la validación. Esta forma de estimar la incertidumbre es más apropiada ya que tiene cuenta las variaciones en la muestra, reactivos y equipos con el paso del tiempo, la manipulación de la muestra variable en el tiempo, etc, mientras que el método “bottom-

up” solo emplea la incertidumbre de las magnitudes experimentales de las que depende el mesurando y conduce frecuentemente a una subestimación de la incertidumbre.

Tabla 14. Tabla comparativa de parámetros técnicos obtenidos por los métodos validados

Parámetro		Método de análisis	
		Método volumétrico	Método ICP-OES
Linealidad y Rango Lineal		-	Lineal en el intervalo 0-150 mg/l
Robustez		No estimado	Robusto frente a la matriz analítica
Intervalo de Trabajo (%Al₂O₃)		0.102-25.38	0-28.34
Límite de Detección (%Al₂O₃)		2.41	0.32
Límite de Cuantificación (%Al₂O₃)		7.23	0.98
Sesgo (%E_{rel})		-1.12	-7.54
Precisión (%DER):	<i>Repetibilidad</i>	0.25	0.73
	<i>Reproducibilidad</i>	0.45	0.91
Incertidumbre de medida:	<i>Método Gum (U_{exp})</i>	0.5	0.2
	<i>Modelo basado en los resultados de la validación (U_{exp})</i>	1.7	1.7

Para determinar si la diferencias entre la concentración media de aluminio determinada por los dos métodos es significativa, se aplicó una prueba t de comparación de medias. Previamente, una prueba F de Fisher de comparación de varianzas demostró que la varianza de los dos métodos (precisión) es comparable. La prueba t de comparación de medias con varianzas similares indicó la presencia de diferencias significativas entre los resultados medios de ambos métodos para la muestra de control ($t_{calculado} = 2.160$ es mayor que $t_{crit} = 1.771$).

Al comparar ambos resultados medios con el valor de referencia asignado al material de control se observa que el método complexométrico dio valores próximos al valor aceptado, mientras que ICP-OES produjo resultados afectados por un sesgo negativo mayor. Ante este resultado, se realizaron dos determinaciones, en diferentes días, de la misma muestra de control interno (empleada en el estudio de precisión) por ICP-OES mediante el método de adiciones patrón, observando que bajo esas condiciones el resultado obtenido sí se acercaba al obtenido complexométricamente, tal como se puede ver en la *Tabla 15*.

Tabla 15. Comparación de resultados obtenidos por los diferentes métodos

%Al₂O₃ en análisis volumétrico	17.17
%Al₂O₃ en ICP- OES	16.11
%Al₂O₃ en ICP- OES mediante MAP	17.05

A la vista de estos datos, podemos decir que, aunque no se observa efecto matriz, como se concluyó de la comparación de pendientes de la calibración con patrones puros y por el MAP, existe alguna fuente de error aún no identificada que produce un sesgo negativo en la determinación de aluminio en coagulantes de cloruro de polialuminio cuando se miden por ICP-OES empleando un calibrado externo.

5. CONCLUSIONES

Se ha procedido a simplificar el método descrito en la norma UNE-EN-1302:1999 para la determinación de aluminio en coagulantes de cloruro de polialuminio.

La modificación del método complexométrico normalizado consiguió bajar los tiempos de tratamiento de muestra de 2 horas a 45 min, reducir los costes de material y reactivos, así como mejorar la precisión de los resultados analíticos.

De acuerdo a la norma UNE-EN-ISO 17025:2017, los métodos normalizados que sufren modificaciones deben ser validados. Se han estimado las características de funcionamiento del método simplificado y se ha comprobado que se alcanzan los objetivos de validación propuestos para precisión, veracidad e incertidumbre.

Se ha comparado el método complexométrico con un método instrumental alternativo (ICP-OES), que también ha sido validado. Este método es más rápido y caro que el método complexométrico y genera resultados de similar precisión e incertidumbre de medida. No obstante, se observó un mayor sesgo en los resultados que pudo ser corregido utilizando el método de adiciones patrón como método de calibración.

Para los coagulantes PAC-18 fabricados en la empresa donde se ha realizado parte de este trabajo, el método complexométrico propuesto es más recomendable debido a su bajo coste, simplicidad y características de funcionamiento adecuadas a los requerimientos de control de calidad del producto (*fit for purpose*).

El método complexométrico podría mejorarse aun más en cuanto a consumo de reactivos con el fin de gastar menos reactivos si la dilución de la muestra se hace pesando 2 g de muestra y diluyéndose en un matraz de 200 ml (material disponible en la empresa).

Como reflexión final, los métodos espectroscópicos como ICP-OES o FAAS podrían aumentar la capacidad de análisis en el futuro crecimiento previsto por la empresa.

6. REFERENCIAS

- AENOR. (1999). UNE-EN 1302:1999. *Productos químicos utilizados para el tratamiento del agua destinada al consumo humano. Coagulantes con base de aluminio. Métodos de análisis*. Madrid.
- AENOR. (Febrero de 2002). UNE 77059:2002. *Calidad del agua. Determinación de aluminio. Método colorimétrico con eriocromocianina R*. Madrid.
- AENOR. (2018). UNE-EN 17034:2018. *Productos químicos utilizados para el tratamiento del agua destinada al consumo humano*. Madrid.
- Aguilar, M.I.; Sáez, J.; Llorens, M.; Soler, A.; Ortuño, J.F. (2002). *Tratamiento físico-químico de aguas residuales. Coagulación-Floculación*. Universidad de Murcia.
- Bratby, J. (2016). *Coagulation and Flocculation in water and wastewater Treatment* (Third ed.). IWA Publishing.
- Claassen, A.; Bastings, L.; Visser, J. (1954). A highly selective procedure for the spectrophotometric determination of aluminium with 8-hydroxyquinoline and its application to the determination of aluminium in iron and steel. *Analytica Chimica Acta*, 10, 373-385.
- Directiva (UE) 2015/1787 de la Comisión, de 6 de octubre de 2015, por la que se modifican los anexos II y III de la Directiva 98/83/CE del Consejo, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano. OJ L 260, 7 de octubre de 2015, 6–17.
- Guzmán, L., Villabona, Á., Tejada, C., & García, R. (2013). Reducción de la turbidez del agua usando coagulantes naturales: una revisión. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 16, 253-262.
- Harris, D. (2007). *Análisis químico cuantitativo* (Tercera ed.). Reverté.
- Hernández Revilla M. (2013). Validación de métodos de ensayo y estimación de la incertidumbre de medida conforme a la norma ISO/IEC 17025. Aplicación al análisis de aguas residuales y continentales. *Tesis Doctoral*. Universidad de Valladolid.

- Instituto Nacional de Estadística. (2018). Recuperado el 5 de Agosto de 2019, de Cifras oficiales de población de los municipios españoles: Revisión del Padrón Municipal: <https://www.ine.es/jaxiT3/Tabla.htm?t=2852&L=0>
- International Organization for Standardization (ISO). (2005). ISO/IEC 17025:2017. *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración*. CTN/66 ISO-UNE
- JCGM 100. (2008). *Guide to the expression of Uncertainty in Measurement*. <http://www.cem.es/sites/default/files/gum20digital1202010.pdf>
- Magnusson, B; Örnemark, U. (eds.). (2014). Eurachem Guide: The fitness for purpose of analytical methods. A laboratory guide to method validation and related topics. *2nd ed.* Obtenido de www.eurachem.org.
- Marckzenko, Z. and Balcerzak, M. . (2000). *Separation, Preconcentration and Spectrophotometry in Inorganic Analysis*. Poland: Elsevier.
- Massart, D. L., Vandeginste, B. G. M., Deming, S. N., Michotte, Y. K. A. U. F. M. A. N., & Kaufman, L. (1988). *Chemometrics: a textbook*.
- Pakalns, P. (1965). Spectrophotometric determination of aluminium with chrome azurol S. *Analytica Chimica Acta*, 32, 57-63.
- Pilca Baque, D. (2011). *Tecnología para la aplicación del policloruro de aluminio en procesamiento de aguas*. Universidad de Guayaquil.
- Pratt, W., Stevens, J., & Symons, P. (2011). *España Patente nº 23600009*.
- Rodríguez, D. (2008). Potabilización del agua. Módulo IV: Abastecimientos y Saneamientos urbanos. Madrid, España: EOI-Escuela Europea de Negocios.
- Trick, J.K. ; Reeder, S.; Smith B.; Mushiri, S.M. (1995). The development and Validation of a method for determination of specific forms of aluminium in natural waters. *BGS Technical Report*.
- Vargas Camareno, M.; Romero Esquivel, L.G. (2006). Aprovechamiento de algunos materiales en el desarrollo de coagulantes y floculantes para el tratamiento de aguas en Costa Rica. *Tecnología en Marcha*, 19(4), 37-41.

7. MATERIAL COMPLEMENTARIO

Tabla I. Métodos de determinación de aluminio por espectrometría Uv-Vis

Método	Ligando	pH del medio	λ máx (nm)	ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)	Interferencias	Rango lineal	Referencia
Eriocromianina R (ECR)	ERC	6	536	65.000	F ⁻ : adición de fluoruros a las disoluciones patrón Polifosfatos. Se reducen a otrosfosfatos. Estos solo interfieren a partir de 10 mg/l	0.006-0.25 mg/l	(AENOR, 2002)
Aluminón	Aluminón	4-6	530	20.000	Be ²⁺ , Fe ³⁺ . Empleo de ácido ascórbico o ácido tioglicólico. F ⁻ , PO ₄ ³⁻ .	0-1 mg/l	(Marckzenko y Balcerzak, 2000)
8-Hidroxiquinoleína	oxina	9	390 (cloroforno como disolvente)	73.103	Fe ³⁺ : enmascarado mediante el empleo de una solución de ácido ascórbico. Ti, V, Nb, U, Ce: empleo de peróxido de hidrógeno. Ni, Co, Cu, Zn, Cd, Ag, Fe ²⁺ Empleo de enmascaramiento con cianuro.	60 µg	(Claaseen et al., 1954)
Cromado de Azurol S (CAS)	CAS	4,6	558	21.600	Fe ³⁺ : enmascarado con una solución de ácido ascórbico. Cu ²⁺ : Puede ser enmascarado con tiosulfato de sodio. Mo ⁴⁺ : Formando complejos con el ion fosfato. Be ²⁺ , V y Zr ⁴⁺ : Previa extracción antes de la determinación.	0-1,2 mg/l	(Pakahis, 1965; Marckzenko y Balcerzak, 2000)
Violeta de Pirocatecol (PCV)	PCV	6,0-6,2	580	63.000	Fe ³⁺ : Se compleja añadiendo 1,10-fenantrolina. F ⁻ : adición de fluoruros a las disoluciones patrón.	0,020-1 mg/l	(Trick, et al., 1995)

Tabla II. Determinación de cloruro de polialuminio por ICP-OES/MS

Metal	Concentración (%)
Al	9.1 (% Al_2O_3 = 17.2)
Cr	<0.0004
Ni	<0.0004
As	<0.000007
Se	<0.00006
Cd	<0.0004
Sb	<0.000007
Hg	<0.000004
Pb	<0.0004

Fuente: Facultad de ciencias y Tecnología de la Universidad del País Vasco.

Analista: Dra. María Luz Alonso

Tabla III. Fórmulas empleadas para el cálculo de la incertidumbre individual para el material volumétrico

<i>Incertidumbre debida a la repetibilidad</i>	$u(V, \text{rep}) = \sqrt{\frac{s^2}{n}}$
<i>Incertidumbre debida a la temperatura</i>	$u(V, \text{temp}) = \frac{V_{\text{nominal}} \cdot \Delta T \cdot \rho}{\sqrt{3}}$ <p>ρ, coeficiente de expansión cúbica del agua</p>
<i>Incertidumbre debida al calibrado</i>	$u(V, \text{cal})_1 = \frac{\text{Tolerancia}}{\sqrt{3}}$ <p>o bien</p> $u(V, \text{cal})_2 = \sqrt{\frac{\sum \delta_i^2}{n}}$

Tabla IV. Fórmulas empleadas para la estimación de la precisión

<i>Suma dentro de columnas</i>	$SS_R = \sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x}_j)^2$
<i>Suma entre columnas</i>	$SS_A = \sum_j n_j (\bar{x}_j - \bar{x})^2$
<i>Suma de cuadrados total</i>	$SS_T = \sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x}_j)^2 + \sum_j n_j (\bar{x}_j - \bar{x})^2$
<i>Grados de libertad</i>	$\begin{aligned} \text{gdl}_T &= n^\circ \text{ de experimentos} - 1 \\ \text{gdl}_A &= n^\circ \text{ de niveles} - 1 \\ \text{gdl}_R &= \text{gdl}_T - \text{gdl}_A \end{aligned}$
<i>Cuadrados medios</i>	$MS = \frac{SS}{\text{gdl}}$
<i>Estadístico F</i>	$F = \frac{MS_A}{MS_R}$
<i>Test de Cochran</i>	$C = \frac{s_{máx}^2}{\sum_j s_j^2}$